

**Universita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie



**Bc. Hana Pechmanová**

Fenotypová divergence populací kachny divoké (*Anas platyrhynchos*) z chovů a volné  
přírody

Phenotypic divergence between farmed and wild populations of mallard (*Anas  
platyrhynchos*)

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce: Mgr. Jakub Kreisinger, PhD.

Praha, 2015



**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 14. 8. 2015

Podpis

## **Poděkování**

Na tomto místě bych v první řadě chtěla poděkovat svému školiteli Jakubovi Kreisingerovi za vedení mé práce a mnoho cenných rad, za nesmírnou pomoc při statistickém zpracování dat, za trpělivost a také za psychickou podporu.

Poděkovat bych chtěla též své rodině a svým nejbližším, kteří po celou dobu mého studia podporovali má rozhodnutí a byli mi oporou a tak velkou měrou přispěli ke vzniku této práce.

Velké díky také patří Klatovskému rybářství a.s. a MS Stráže Lnáře za poskytnutí vajec z populací z chovů, Ing Oto Čížkovi za pomoc při vyřizování povolení ke sběru vajec v divokých populacích a Miroslavovi Hockovi a Lukáši Zitovi za poskytnutí útočiště. Dále Verče Javůrkové, Kláře Šíchové, Dáše Čížkové, Michalovi Vinklerovi, Honzovi Bílému, Liboru Vojtkovi, Monice Dvořáčkové a především Janě Svobodové za veškeré rady a připomínky a pomoc s metodikou, sběrem vajec či zpracováním dat.

Tato práce vznikla za přispění grantového projektu GAČR č. 14-16596P.

## ***Abstrakt***

Masivní vypouštění uměle odchovaných jedinců může představovat riziko pro původní volně žijící populace. Pokles početnosti kachna divoké (*Anas platyrhynchos*) vedl v mnoha státech, včetně České republiky, k zakládání intenzivních odchovů kachen divokých a jejich vypouštění pro lovecké účely. Jedinci v zajetí jsou ovšem vystaveni odlišným selekčním tlakům a evolučním procesům vedoucím k jejich genetické a fenotypové divergenci od původních populací. Cílem této práce bylo pomocí tzv. common garden experimentu zjistit, zdali se fenotyp kachňat z vajec z komerčních chovů a z volné přírody liší v růstových, hematologických, imunologických a behaviorálních parametrech i při vývoji ve stejných podmínkách. Jedinci z chovů byli i po kontrole na rozdílnou velikost vajec těžší a vyznačovali se vyšším nárůstem hmotnosti. Většími strukturními rozměry tarzu i zobáku se vzhledem k měřítku tělesné velikosti vyznačovala naopak kachňata z divoké populace. Analýza hematologických znaků, jako jsou diferenciální počet leukocytů a imaturní počet erytrocytů, ukázala komplexní vztahy v průběhu ontogeneze. Poměr heterofilů ku lymfocytům (H/L) a zastoupení imaturních erytrocytů se vyznačovaly dynamickými změnami v průběhu vývoje mláďat i v závislosti na morfologických parametrech. Navíc v případě počtu imaturních erytrocytů byla tato dynamika značně odlišná mezi jedinci z chovů a volné přírody. Tyto populace se lišily také v komponentě pro společné zastoupení monocytů, bazofilů a eozinofilů. U mláďat z chovů byla zaznamenána vyšší účinnost nespecifické imunitní odpovědi (bakteriolytické aktivity komplementu). V jednoduchém behaviorálním open field testu vykazovala divoká kachňata oproti kachňatům z chovů zvýšenou míru aktivity. Přítomnost rozdílů i přes vývoj ve standardizovaných podmínkách naznačuje, že tyto rozdíly jsou determinované geneticky, a fenotypová divergence těchto dvou populací tak není dána jen fenotypovou plasticitou daných znaků.

**Klíčová slova:** kachna divoká (*Anas platyrhynchos*), fenotyp, vypouštění, common garden experiment

## ***Abstract***

Large-scale restocking of hand-reared individuals can pose a risk for wild populations. A decrease in the abundance of the Mallard (*Anas platyrhynchos*) has led to game-farming and the release of hand-reared mallards for hunting purposes in many states, including the Czech Republic. Different selection pressures and evolutionary processes affecting farm animals may cause genetic and phenotypic divergence between these populations. The aim of this thesis is to find out if the phenotype of ducklings hatched from eggs in game-farm and wild population varies in growth, hematological, immunological and behavioral traits, in controlled conditions using common garden experiment. Game-farm individuals were heavier and characterized by larger growth, even when controlled for different egg size. Individuals hatched from eggs of wild origin, on the other hand, had a larger bill and tarsus in relation to body size. An analysis of hematological traits, such as the differential number of leucocytes and immature erythrocyte count in relation to the overall numbers of erythrocytes, displayed complex relations during ontogenesis. The heterophil/lymphocyte (H/L) ratio and the immature erythrocyte count were characterized by dynamic changes in the course of development of juveniles and by interaction with morphological parameters. In addition, in the case of the immature erythrocytes count, this dynamic was significantly different between individuals bred in captivity and those in the wild. These populations also differed in the component for common fraction of monocytes, basophils and eosinophils. The game-farm young showed a higher effectivity of non-specific immunity responses (in the bacteriolytic complement activity). In simple behavioural open-field testing, an increased activity in the wild individuals in comparison to farmed ones was revealed. The presence of these differences, despite the standard conditions, may suggest their genetic determination rather than a simple phenotype plasticity.

**Keywords:** Mallard (*Anas platyrhynchos*), phenotype, restocking, common garden experiment

# Obsah

Obsah .....	7
1 Úvod.....	9
1.1 Kachna divoká jako příklad masivního vypouštění jedinců ze zajetí .....	10
1.1.1 Charakteristika a početnost kachny divoké ( <i>Anas platyrhynchos</i> ) .....	10
1.1.2 Intenzivní chov a vypouštění kachny divoké a jejich rizika .....	11
1.2 Mechanismy genotypové a fenotypové divergence kachny divoké z chovů a volné přírody.....	14
1.3 Genetická diferenciacce mezi chovy a divokou populací.....	15
1.4 Fenotypová divergence mezi chovy a divokou populací.....	17
1.4.1 Morfologické a anatomické odlišnosti.....	18
1.4.2 Rozdíly v chování .....	20
1.5 Přežívání vypouštěných jedinců .....	21
1.6 Common garden experiment.....	21
2 Cíle práce .....	24
3 Metodika .....	25
3.1 Chov zvířat a plán pokusu .....	25
3.2 Morfologické parametry .....	28
3.3 Hematologické parametry a aktivita komplementu .....	29
3.4 Behaviorální test .....	30
3.5 Určení pohlaví.....	32
3.6 Statistická analýza dat.....	33
3.6.1 Morfologické a růstové parametry.....	34
3.6.2 Hematologické parametry a aktivita komplementu .....	35
3.6.3 Open field test.....	36
4 Výsledky .....	37
4.1 Morfologické charakteristiky a líhnivost vajec.....	37

4. 2 Růstové parametry mlád'at.....	38
4.3 Hematologické parametry a aktivita komplementu .....	45
4.4 Open field test.....	53
5 Diskuse.....	59
5.1 Morfologické parametry vajec a líhnivost mlád'at.....	59
5.2 Růstové parametry mlád'at.....	60
5.3 Hematologické parametry a aktivita komplementu .....	62
5.4 Projevy chování .....	67
6 Závěr .....	72
Seznam zkratk .....	74
Seznam použité literatury .....	75
Přílohy.....	88



# 1 Úvod

Vypouštění jedinců odchovaných v zajetí do oblastí, kde se vyskytují volně žijící populace daného druhu (v literatuře označováno jako „restocking“ (Armstrong & Seddon 2008) či „suplementace“ (IUCN 1998)), je jedním z výrazných antropogenních zásahů do přirozených společenstev živočichů (Laikre et al. 2010, Champagnon et al. 2012a). Nejvíce druhů je vypouštěno s cílem navýšit početnost či zvýšit genetickou diverzitu ohrožených populací (např. Pérez-Buitrago et al. 2008, Roche et al. 2008, Weinhold 2008). K vypouštění může docházet též z náboženských důvodů (Agoramoorthy & Hsu 2007) a v malé míře i pro účely vědeckého výzkumu (Elmberg et al. 2005). Za suplementace by ve svém důsledku mohly být považovány i úniky jedinců z kožešinových farem (Norén et al. 2005) nebo otevřených rybích farem (McGinnity et al. 2003). Vypouštění uměle odchovaných jedinců je ovšem ve velkém měřítku běžně využíváno také k udržení či navýšení početnosti hospodářsky využívaných druhů volně žijících zvířat (Laikre et al. 2006, Champagnon et al. 2012a). Toto je běžnou praxí u mnoha druhů ryb a rekreačně lovené zvěře, jako jsou například losos obecný (*Salmo salar*), pstruh obecný (*Salmo trutta*; Laikre et al. 2006), orebice rudá (*Alectoris rufa*; Villanúa et al. 2008), křepelka polní (*Coturnix coturnix*; Sanchez-Donoso et al. 2014), bažant obecný (*Phasianus colchicus*; Santilli et al. 2014) či kachna divoká (*Anas platyrhynchos*; Champagnon et al. 2009). Přes efektivní dlouhodobé či krátkodobé navýšení početnosti volně žijících populací cílových druhů a odvedení loveckého tlaku od divoké populace představuje vypouštění jedinců ze zajetí pro původní populace i ostatní druhy v daném habitatu potenciální riziko, jež je ovšem mnohdy opomíjeno (Mank et al. 2004, Champagnon et al. 2012a).

Vyšší míra genetického driftu a příbuzenského křížení (inbreeding; Woodworth et al. 2002) a přítomnost odlišných selekčních tlaků či relaxace přirozené selekce v podmínkách chovů (Gilligan & Frankham 2003, Robert 2009) mohou vést u populací ze zajetí k poklesu genetické diverzity a jejich genetické i fenotypové divergenci od původních volně žijících populací. Vypouštění uměle odchovaných jedinců a jejich následná hybridizace s volně žijícími jedinci může narušit genetickou integritu a identitu volně žijících populací, vést k postupnému posunu v jejich fenotypu a ve výsledku tak vést až ke snížení jejich fitness (biologické zdatnosti; Ford 2002, Araki et al. 2007, Laikre et al. 2010). Masivní vypouštění může navíc představovat problém i z epidemiologického hlediska vzhledem k vysoké prevalenci některých patogenů v chovech a vysokým denzitám vypouštěných jedinců, což usnadňuje šíření řady patogenů (Krkošek et al. 2005, Villanúa et al. 2008, Vittecoq et al. 2012).

I přes mnohdy masivní měřítko, ve kterém k odchovům a vypouštění druhů významných pro rekreační lov dochází (např. Villanúa et al. 2008, Champagnon et al. 2011), byla pozornost vědeckého výzkumu i veřejnosti po dlouhou dobu věnována především suplementacím a reintrodukcím ohrožených druhů (Black 1991, Champagnon et al. 2012a) a z hospodářsky využívaných druhů vypouštění a únikům ekonomicky významných druhů ryb (Stahl 1983, Hindar et al. 1991, Gonzales et al. 2008). Vypouštění za účelem navyšování loveckých příležitostí bývá oproti suplementacím ohrožených druhů navíc méně monitorováno i zpětně vyhodnocováno. Zájem o tuto problematiku však v posledních letech narůstá (Barbanera et al. 2010, Laikre et al. 2010, Champagnon et al. 2012a, Sanchez – Donoso et al. 2014, Söderquist et al. 2014).

## **1.1 Kachna divoká jako příklad masivního vypouštění jedinců ze zajetí**

Jedním z nejrozšířenějších druhů vypouštěným za účelem navýšení původní populace pro lovecké účely je kachna divoká (Champagnon 2009, Laikre et al. 2010). Kromě obliby u lovecké obce je kachna divoká také objektem pozornosti laické veřejnosti, amatérských ornitologů a dobře prostudovaným druhem ekologického, ochranářského a epidemiologického vědeckého výzkumu (Kear 2005, Elmberg 2009, Johnsgard 2010). Může tak představovat vhodný modelový druh pro výzkum změn genotypu i fenotypu populací v zajetí a přínosů i negativních dopadů masivního vypouštění na původní volně žijící populace.

### **1.1.1 Charakteristika a početnost kachny divoké (*Anas platyrhynchos*)**

Kachna divoká (*Anas platyrhynchos*; Linné, 1758) je nejrozšířenějším druhem kachny na světě. Řadí se do řádu vrubozobých (Anseriformes), čeledi kachnovitých (Anatidae), tribu plovavých kachen (Anatini). Její původní areál rozšíření tvoří holarktická oblast, ale byla introdukována také na Nový Zéland a do jihovýchodní Austrálie (Hoyo et al. 1996). Z kachny divoké bylo také vyšlechtěno mnoho plemen domestikované kachny domácí (*Anas platyrhynchos f. domestica*; Kear 2005). Kachna divoká je druhem velmi adaptabilním, je schopna se přizpůsobit téměř jakémukoliv mokřadnímu a vodnímu habitatu – tekoucím i stojatým sladkovodním vodám, ale i vodám brakickým a pobřežním. Je také tolerantní k různým druhům disturbance, včetně lidské přítomnosti. Často tak tvoří stálé urbánní populace (Cramp & Simmons 1977, Hoyo et al. 1996, Hudec 1994, Barrati et al. 2009). Většina populací kachny divoké je tažná, ovšem některé populace v mírném klimatu, např. v západní a jižní Evropě, jsou přelétavé až stálé a migrují pouze v chladných zimách (Šťastný et al. 2006, Cepák et al. 2008).

Celkový trend početnosti kachny divoké je mírně klesající, přestože v některých oblastech její početnost stoupá (Birdlife International 2004, Wetlands International 2006). Podle Červeného seznamu ohrožených druhů je kachna divoká druhem málo dotčeným (IUCN 2012). Početnost kachny divoké je odhadována v Severní Americe na 10 milionů jedinců (USFWS 2012), v Asii na 2.5 milionů jedinců a v Evropě na 7.5 milionů jedinců (Wetlands International 2006).

Na území České republiky se celková početnost hnízdní populace kachny divoké dlouhodobě snižuje (Šťastný et al. 2006). K výraznému propadu došlo v 80. letech (Musil et al. 2001, Musil & Cepák 2004). Mezi obdobími 1973 – 1977 a 1985 – 1989 se úbytek početnosti hnízdní populace odhadoval na 20 – 50 % (Šťastný et al. 2006). Naproti tomu u zimujících populací kachny divoké dochází od konce šedesátých let k mírnému nárůstu početnosti (Musil et al. 2011).

Za celosvětovým poklesem populací kachny divoké stojí především ztráta mokřadních habitatů jejich přeměnou na zemědělskou půdu či lidskou zástavbou a jejich degradace (Baldassarre & Bolen 2006, Johnsgard 2010). K poklesu přispěl také výskyt botulismu, otravy botulotoxinem produkovaným anaerobní bakterií *Clostridium botulinum* (Locke & Friend 1987 ex Kear 2005, Šťastný & Bejček 1989), znečištění vod, zvýšená míra predace či vyšší tlak ze strany lovců (Musil et al. 2001, Musil a Cepák 2004, Zbořil et al. 2007). K degradaci rybníčních a některých jezerních oblastí přispěla také intenzifikace chovu ryb vedoucí k eutrofizaci vod a necitlivé vyhrnování sedimentů ze dna narušující pozvolný břehový gradient a litorální porosty, a tedy úbytek hnízdních a potravních možností (Zasadil 2001, Musil & Cepák 2004, Broyer & Curtet 2012).

### **1.1.2 Intenzivní chov a vypouštění kachny divoké a jejich rizika**

Již v první polovině 20. století byly v Evropě i Severní Americe zakládány chovy kachen divokých, jejichž cílem bylo podpoření hnízdní populace volně žijících kachen divokých a navyšování loveckých příležitostí pernaté zvěře. Často se jednalo o tzv. polodivoký chov, tedy odchov a vypouštění jedinců pocházejících z vajec sebraných ve volné přírodě (Točka 1972, Bolen 2000). K zakládání farmových tzv. krotkých chovů, založených na udržování chovného hejna (Kubešová et al. 2002), a masivnímu vypouštění kachny divoké pro účely krátkodobého navýšení populace k zvýšení míry odstřelu vedl v České republice, ale i mnoha dalších evropských zemích, až prudký pokles početnosti původních populací v 70. letech (Laikre et al. 2006, Champagnon et al. 2009, DGIF 2007). K rozmachu vypouštění přispěl i celkový úbytek

jiných druhů drobné lovné zvěře, jako jsou např. zajíc či koroptev. Vzhledem k nenáročnosti jejího chovu tak zastoupila kachna divoká z velké části poptávku po lovu drobné zvěře (Šťastný et al. 2006, Kubešová 2002, Zbořil 2007, Sokos et al. 2015). K vypouštění dochází obvykle přibližně dva až tři měsíce před začátkem lovecké sezóny a jedná se o 6 – 9 týdnů staré jedince (Champagnon et al. 2009, Ministerstvo zemědělství 2009 – 2015). Na místě vypouštění jsou pak přikrmována obilím, kukuřicí nebo rýží, aby zůstala na dané lokalitě a minimalizovala se jejich úmrtnost (Lee & Kruse 1973, Champagnon et al. 2009, Guillemain et al. 2010).

Převážná většina celosvětové produkce kachen z odchovů připadá právě na Evropu, dle odhadů se zde každoročně vypouští téměř 3 miliony jedinců (Champagnon et al. 2011). Tento počet je srovnatelný s celkovou velikostí evropské populace kachny divoké. Konkrétně, zimující populace kachny divoké na území Evropy je odhadována na 7.5 milionu jedinců (Wetlands International 2006) a hnízdní populace na 3 000 000 až 5 100 000 párů (Birdlife International 2004). Nejvíce uměle odchovaných kachen divokých, kolem 1 400 000 jedinců, je vypouštěno ve Francii (Mondain-Monval & Girard 2000 ex Champagnon et al. 2009). V poměru s početností hnízdní populace čítající dle odhadů 30 000 – 60 000 párů (Birdlife International 2004) jsou počty vypouštěných jedinců extrémně vysoké. Francouzské farmy exportují část své produkce také do Španělska, Švédska, Dánska, Belgie, Nizozemska nebo Německa a výjimečně také do Maroka či Kataru (Champagnon 2011). Ve Velké Británii je každý rok odchováno a vypuštěno 400 000 jedinců (Banks et al. 2008), stejný počet je každoročně vypouštěn také v Dánsku (Noer et al. 2008). Do Švédska se každoročně importuje alespoň 30 000 vajec z dánských a francouzských farem (Laikre et al. 2006) a vypouští se kolem 250 000 jedinců (Söderquist et al. 2014). V Irsku se každoročně vypouští 4000 jedinců, několik tisíc také v Chorvatsku (Banks et al. 2008). Odchovy a vypouštění jsou praktikovány také v Itálii (Baratti et al. 2009), Německu, Belgii, Finsku, Ukrajině, Lotyšsku a dalších evropských zemích (Banks et al. 2008, Champagnon 2011). Na území České republiky byly kachny divoké vypouštěny od začátku 50. let z polodivokého i krotkého chovu (Točka 1972, Musil et al. 2001, Kubešová 2002). Intenzivní krotké chovy se začaly rozmáhat od začátku 80. let v reakci na již zmíněný prudký pokles početnosti hnízdní populace kachen (Šťastný & Bejček 1989, Musil et al. 2001, Musil & Cepák 2004). V průběhu let pak následoval značný nárůst počtu vypouštěných jedinců. Zatímco v roce 1983 bylo na území ČSSR vypuštěno 13 000 jedinců, v roce 1987 již 163 000 jedinců. Převážná většina těchto kachen byla vypuštěna na území současné ČR, podíl vypuštěných kachen na Slovensku byl velmi malý, pouhé 1 % (Šťastný & Bejček 1989). V současnosti je v České republice každoročně vypuštěno 170 000 – 200 000 uměle odchovaných jedinců (Ministerstvo zemědělství 2009 – 2015), což je několikanásobně

vyšší počet, než je početnost hnízdní populace, která je odhadována na 25 000 až 45 000 párů (Birdlife International 2004, Šťastný et al. 2006).

Naproti tomu mimo Evropu se suplementace kachny divoké uplatňují ve velmi omezené míře. V Severní Americe dochází k vypouštění kachen divokých jen minimálně s ohledem na velikost původní hnízdní populace čítající kolem 10 milionu jedinců (USFWS 2012b). V celých Spojených státech bylo např. v roce 2001 vypuštěno pouze cca 300 000 jedinců kachny divoké a v Kanadě není vypouštění praktikováno vůbec (USFWS 2003). K udržování stabilní početnosti populací lovených druhů vrubozobých ptáků je uplatňován především tzv. „adaptive harvest management“, tedy adaptivní řízení lovu. Tento systém pružně mění regulaci lovu jednotlivých druhů na základě každoročních odhadů početnosti jejich hnízdních populací a možných změn podmínek prostředí (Williams & Johnson 1995, Baldassarre & Bolen 2006). Adaptivní řízení lovu je tak příkladem plodné spolupráce vědeckého výzkumu a loveckého managementu (Nichols et al. 1995).

Vypouštění kachen divokých pro lovecké účely se pro původní volně žijící populace jeví ve světle současných znalostí a v kontextu ochrany přírody jako potenciální riziko. Důsledkům těchto suplementačních programů na volně žijící populace je však věnovaná překvapivě nízká pozornost (Champagnon et al. 2009).

Odechovaní jedinci jsou vypouštěni na lokality ve vysokých hustotách, což může ovlivňovat volně žijící populace prostřednictvím hustotně závislých faktorů, jako jsou kompetice o potravinu i hnízdní příležitosti, zvýšená predace a přenos patogenů (Newton et al. 1998, Elmberg et al. 2005, Lebarbechon et al. 2008, Champagnon et al. 2012a). Intenzivní chovy kachen mohou být také potenciálními zdroji patogenních nákaz, např. chřipky (influenzy) typu A (Bragstad et al. 2005, Vittecoq et al. 2012) či herpesvirové enteritidy kachen (USFWS 2003), které se mohou šířit mezi jednotlivými farmami prostřednictvím importu a exportu vajec a kachňat a dále mezi volně žijící populace (Laikre et al. 2006, Gauthier-Clerc et al. 2007, Champagnon 2011). V některých areálech může představovat hybridizace vypouštěných jedinců riziko pro genetickou identitu příbuzných druhů, např. v Severní Americe vedlo vypouštění kachny divoké k rozšíření jejího původního areálu a následné hybridizaci s kachnou tmavou (*Anas rubripes*; Mank et al. 2004).

V současnosti je však nejvíce diskutovaným rizikem nízká genetická diverzita populací kachny divoké z chovů a jejich genetická a fenotypová divergence od volně žijících populací. Tyto změny nemusí být v přirozených podmínkách výhodné a mohou tak snižovat

fitness svých nositelů. I přes nízké přežívání vypouštěných jedinců (Champagnon et al. 2012b, Söderquist et al. 2013) může vést masivní vypouštění k hybridizaci a introgresi s volně žijícími populacemi a představovat tak hrozbu pro genetickou diverzitu a integritu původních populací (Laikre et al. 2010, Čížková et al. 2012).

## **1.2 Mechanismy genotypové a fenotypové divergence kachny divoké z chovů a volné přírody**

Vedení intenzivních chovů rekreačně lovené zvěře je v porovnání s konzervačními suplementačními programy regulováno jen velmi povrchně a bez ohledu na poznatky populační a ochránářské genetiky (Champagnon et al. 2012a). K zakládání současných chovů byl použit jen omezený počet jedinců v porovnání s velikostí divoké populace. Efekt zakladatele (tzv. “founder effect”) vedl k tomu, že v chovných hejnech nejsou zahrnuty některé vzácné varianty alel, které se vyskytují v divoké populaci (Čížková et al. 2012). V důsledku příbuzenského křížení (tzv. “inbreeding”) a náhodných procesů, tzv. genetického driftu, tak u chovných hejn již po mnoho generací postupně dochází k eliminaci genetických variant a tím homogenizaci jejich genofondu (Woodworth et al. 2002, Laikre et al. 2010). Mezi jednotlivými chovatelskými zařízeními běžně dochází k výměně jedinců a oplozených vajec, v Evropě často i mezi různými státy (Laikre et al. 2006, Champagnon et al. 2013, Zimmer, osobní komunikace), tyto postupy však mají na zachování genetické variability jen omezený efekt. Daleko efektivnější by bylo obohacování chovných hejn jedinci z divoké populace, k tomu však v praxi dochází v omezené míře, především kvůli možnému riziku přenosu infekcí do chovů (Hůda et al. 2001, Söderquist et al. 2013).

Kromě výše zmíněného byla chovná hejna po mnoho generací v podmínkách zajetí vystavována odlišným selekčním tlakům či relaxaci přírodní selekce (Ford 2002, Gilligan & Frankham 2003). Následkem uvolnění selekčních tlaků v zajetí v důsledku absence predace, veterinární péče a dostatku potravy mohlo dojít ke změnám znaků, které jsou v přirozeném prostředí zásadní, jako jsou například antipredační chování či vyhledávání potravy (Desforges & Woodgush 1975, McPhee 2004, Robert 2009). V chovech naopak působí jiné selekční tlaky, jež vedou k adaptaci na podmínky v zajetí, zvířata z umělých chovů tak mohou být například méně náchylná na různé disturbance, jako je zvýšená míra hluku a vysoká denzita jedinců na poměrně malém prostoru (Kleiman et al. 2010), nebo u nich může dojít k fyziologickým adaptacím např. na zpracování poskytované potravy (Liukkonen-anttila et al. 2000, Champagnon et al. 2012b). Tyto adaptace, výhodné v podmínkách chovů, se však mohou

ukázat v přirozeném prostředí jako nevýhodné a vést ke sníženému fitness vypouštěných jedinců a jejich případných hybridů s divokou populací (Ford 2002, Gilligan & Frankham 2003). Dále může u chovných hejn kachny divoké docházet k úmyslné i neúmyslné selekci na určité znaky ze strany chovatelů (Lynch & O'Hely 2001). Při obměňování chovných hejn jsou k dalšímu chovu pečlivě selektováni jedinci se zbarvením a tělesnou velikostí odpovídající fenotypu kachny divoké (Champagnon 2011, Zimmer, osobní komunikace). To však nevylučuje možnost, že dochází k necílené selekci zvířat, jež se lépe přizpůsobují podmínkám chovů včetně přítomnosti člověka (Mignon-Grasteau et al. 2005), a jedinců s vysokou reprodukční schopností. Samice kachen divokých v chovných hejnech se vyznačují vysokou snůškou a prodlouženým reprodukčním obdobím (Prince et al. 1970, Cheng et al. 1980), při odebrání vajec mohou dosahovat snůšky až 60 vajec (Točka 1972, Champagnon 2011). Samci z chovných hejn se ve srovnání se samci z divoké linie v podmínkách zajetí také vyznačovali zvýšenou fertilitou (Cheng et al. 1980). U chovných hejn je vzhledem k častému poměru samců a samic 1:4 ve voliérách (Hůda et al. 2001, Zimmer, osobní komunikace) navíc kladen tlak na potlačení monogamního chování. Značně alarmující je fakt, že v počátcích některých chovů bylo těchto vlastností dosahováno i křížením chovných hejn s domestikovanou kachnou plemene Khaki – Campbell, z výsledných hybridů pak byli selektováni jedinci s fenotypem kachny divoké. V současnosti se toto příkřížování již nepraktikuje (Točka 1972, Šťastný & Bejček 1989, Hůda et al. 2001).

Výše zmíněné mikroevoluční procesy tak mohly vést ke genetické, morfologické, fyziologické či behaviorální divergenci kachen divokých z intenzivních chovů od původních divokých populací (Champagnon et al. 2009).

### **1.3 Genetická diferenciace mezi chovy a divokou populací**

Divergence mezi populacemi z intenzivních chovů a volné přírody na genetické úrovni a míra, jakou vypouštění jedinci ovlivňují genofond původních populací, začala být studována až v posledních letech (Čížková et al. 2012, Champagnon et al. 2013, Baratti et al. 2014, Söderquist 2015). Studie Čížkové et al. (2012) porovnávající selekčně neutrální genetické markery (mikrosatelitní DNA, hypervariabilní „d loop“ na mitochondriální DNA) i markery, které jsou pod silnou selekcí (MHC I. třídy), prokázala výraznou genetickou diferenciaci mezi populacemi z farmových chovů a hnízdní populací na území České republiky, přičemž populace z chovů se vykazovaly nižší genetickou diverzitou v důsledku nižší efektivní velikosti populace. Pomocí analýz těchto markerů bylo navíc možné s vysokou mírou spolehlivosti určit, zda daný

jedinec pochází z divoké nebo chovné populace či zda jde o jedince hybridního původu. Ve výsledku se ukázalo, že frekvence divokého nebo hybridního genotypu v chovných zařízeních je naprosto minimální ( $< 1\%$ ), což je v souladu se skutečností, že k obohacování genofundu chovných hejn pomocí jedinců z divoké populace dochází jen v omezené míře (Hůda et al. 2001, Zimmer, osobní komunikace). Vzhledem k masivnímu měřítku, v jakém k vypouštění již po mnoho let dochází, by se dal předpokládat vysoký výskyt jedinců z chovů nebo hybridů v divoké populaci. Oproti tomuto očekávání činil podíl jedinců z chovů a hybridů v hnízdní populaci cca 15 %. Přežívání vypuštěných jedinců a jejich hybridizace a introgrese genotypu z chovů do divoké populace je tak značně omezená. Diferenciace a nízká genetická diverzita populace z chovů oproti volně žijící populaci byly zjištěny také u genu pro hlavní histokompatibilní komplex (MHC) I. třídy, který je zodpovědný za rozpoznávání infekce převážně virového původu imunitním systémem (Čížková et al. 2012). Velká diverzita genů pro MHC v populaci zajišťuje obtížnou adaptaci patogenů proti rozpoznání tímto systémem. Snížení variability MHC genu u chovných populací naproti tomu může zvýšit jejich náchylnost vůči patogenům a usnadnit jejich šíření. Případná introgrese vypuštěných jedinců by tak mohla vést ke snížení rezistence volně žijících populací proti infekčním onemocněním (Kelley et al. 2005; Moon et al. 2005; Murphy et al. 2008).

Studie porovnávající populace z volné přírody a chovu s využitím mikrosatelitních a mitochondriálních markerů (Champagnon et al. 2013) na území Francie došla k podobným závěrům. V této studii byla ovšem i přes častý výskyt hybridů divokých jedinců a jedinců z chovů zaznamenána ve volně žijící populaci velmi nízká frekvence jedinců pocházejících z chovů. Vzorek jedinců z divoké přírody byl však na rozdíl od studie Čížkové et al. (2012) tvořen zimující populací, ve které se nachází i jedinci z tažných populací z oblastí, kde k vypouštění nedochází. Na základě dat z francouzské populace tudíž nelze odhadnout, jaký podíl vzorkovaných jedinců se reálně zapojuje do reprodukce v divoké populaci, a potažmo ani míru introgrese genotypu z chovu do lokální populace. Současná divoká populace ve srovnání s muzejními vzorky se nicméně výrazně nelišila od původní divoké populace z období před zahájením intenzivního odchovu a masového vypouštění. Genotyp původní divoké populace tak mezi volně žijícími populacemi převládá. Známky introgrese genotypu z chovů do divoké populace byly v různé míře nalezeny pomocí mikrosatelitních markerů i mezi populacemi kachny divoké v Itálii (Baratti et al. 2014).

Genetické vzorky z ČR a Francie z výše zmíněných studií (Čížková et al. 2012, Champagnon et al. 2013), dále z 45 lokalit z celého holarktického areálu rozšíření kachny



divoké (Kraus et al. 2013) a z populací ze Skandinávie včetně muzejních vzorků byly porovnány za využití SNP (jednonukleotidový polymorfismus, z anglického single nucleotide polymorphism) markerů (Soderquist 2015). Tato studie ukázala v souladu s předchozími studiemi diferenciaci populací z chovů (z Francie, ČR a Švédska) od současných i historických divokých populací a hybridizaci a introgresi mezi populacemi z chovů a volně žijícími populacemi, a to nejen v zemích, kde k vypuštění došlo, ale i státech, kde vypouštění uměle odchovaných jedinců nebylo nikdy praktikováno, jako jsou např. Finsko či Nizozemsko.

Výsledky studií ukazují, že přes mnohaleté vypouštění geneticky divergentních jedinců byl u současné volně žijící populace zachován zřetelný genotyp původní divoké populace. K hybridizaci a introgresi mezi těmito populacemi však v nízké míře dochází, dlouhodobé vypouštění jedinců z umělých chovů by tak při stávajících měřítkách mohlo vést ke ztrátě genetické diverzity a integrity volně žijících populací a omezit tak jejich evoluční potenciál (Čížková et al. 2012). U kachny divoké probíhá výměna genů víceméně napříč celým jejím areálem, vzhledem k absenci výrazné populační struktury na kontinentální úrovni by tak mohly být případné změny vyrovnávány geneticky propojenými kontinentálními populacemi, a naopak lokální změny by mohly ovlivnit mnohem širší areál (Kraus et al. 2011, Kraus et al. 2013).

#### **1.4 Fenotypová divergence mezi chovy a divokou populací**

V porovnání s genetickou divergencí se rozdílily ve fenotypových znacích mezi divokou a hnízdni populací kachny divoké zabýval poměrně vysoký počet studií. Ve většině případů však jde o studie, které přímo porovnávaly jedince odchované v těchto dvou typech prostředí (např. Byers & Cary 1991, Osborne et al. 2010, Söderquist et al. 2013, Champagnon et al. 2012b), a proto na základě nich nelze usoudit, do jaké míry se na pozorovaných rozdílech ve fenotypu podepisují geneticky podmíněné rozdíly a do jaké míry jsou tyto rozdíly dány pouze odlišnými podmínkami prostředí. Další poměrně rozsáhlá skupina prací studuje posuny ve fenotypových znacích v divoké populaci, ke kterým došlo během 40 let intenzivního vypouštění jedinců z chovů mezi volně žijící populací (např. Champagnon et al. 2010, Söderquist et al. 2014, Gunnarsson et al. 2011). Vypovídací hodnota těchto výsledků ohledně vlivů vypouštění na změnu fenotypu je však rovněž do značné míry omezena vzhledem k tomu, že pozorovaná variabilita v čase nemusí být nutně důsledkem masivního vypouštění, ale mohou se na ní podílet i jiné faktory, jako jsou např. změna prostředí či klimatu (Guillemain et al. 2010). Naproti tomu prací, které by zkoumaly rozdíly mezi divokou populací a populací z chovů u jedinců uměle

odchovaných ve stejných podmínkách, a tím se pokusily odlišit vliv geneticky dané variability od variability v důsledku vývoje v odlišném prostředí, je velmi málo (např. Prince et al. 1970).

#### **1.4.1 Morfologické a anatomické odlišnosti**

Vnější fenotyp kachen divokých z chovů a divoké populace je velmi podobný a jedince z těchto dvou skupin od sebe nelze na první pohled jednoznačně rozlišit. Řada studií však ukazuje nejen možnost rozlišení na základě určitých morfometrických znaků (Byers & Cary 1991), ale také výrazné rozdíly v morfologických a anatomických znacích, které úzce souvisejí s fyziologií a mohou tak nepříznivě ovlivňovat přežívání jedinců ze zajetí v přirozených podmínkách (např. Stunden et al. 1999, Champagnon et al. 2010, Champagnon 2011).

Populace ze zajetí se vyznačují oproti divoké populaci větší hmotností (Figley & VanDruff 1982, Champagnon et al. 2012b). Vyšší hmotnost byla zjištěna u vajec a kachňat z polodivoké linie oproti divoké linii i v podmínkách zajetí (Prince et al. 1970). Větší hmotnost kachen divokých z chovů udávali Guillemain et al. (2010) a Gunnarsson et al. (2011) dokonce jako jednu z možných příčin vzrůstu hmotnosti volně žijících populací kachny divoké v průběhu posledních 30 let.

Kromě vyšší hmotnosti se populace z chovů vyznačují i větší strukturální velikostí. Kachny z chovů mohou být od divoké populace rozeznány na základě delšího a širšího tarzu (Byers & Cary 1991, Pavlišová 2009) a širšího zobáku (Byers & Cary 1991, Pavlišová 2009, Söderquist et al. 2014). S využitím těchto znaků byli Byers & Cary (1991) schopni rozlišit jedince z divoké populace od jedinců z chovů pomocí diskriminační analýzy s úspěšností 88 % pro samce a 96 % pro samice. U jedinců vypuštěných z chovů byla zaznamenána také kratší křídla a kratší zobák (Figley & VanDruff 1982). Kratší křídla u populace v zajetí by mohla být důsledkem snížené selekce na letové schopnosti v podmínkách chovů a může odrážet i jejich sníženou schopnost letu po vypuštění (Pavlišová 2009). Naproti tomu, ke změnám morfometrických parametrů zobáku mohla vést adaptace na potravu poskytovanou v zajetí, jako jsou zrná a krmné pelety (Champagnon et al. 2010, Söderquist et al. 2014).

Do souvislosti s odlišnými mechanickými vlastnostmi potravy je dáována kromě změny samotných rozměrů zobáku také změna hustoty lamel na okraji zobáku. Studie (Champagnon et al. 2010) porovnávající hustotu lamel u současných divokých populací a historické divoké populace zastoupené exempláři z muzejních sbírek pocházejících z dob před zakládáním intenzivních chovů ukázaly, že za posledních 40 let došlo u kachny divoké u současné divoké populace oproti populaci historické ke snížení hustoty lamel (Champagnon et al. 2010).

Obdobná studie (Söderquist et al. 2014) snížení hustoty lamel neprokázala (přestože tendence tímto směrem byla patrná), recentní divoká populace se však oproti té historické vyznačovala širším a vyšším zobákem. Vzhledem k tomu, že změny pozorované v těchto studiích proběhly ve směru k parametrům pozorovaným u jedinců z chovů a k faktu, že změna hustoty lamel byla pozorovaná u kachny divoké, ale nikoliv již u čírky obecné (*Anas crecca*), ekologicky podobného druhu, u kterého k vypouštění nedocházelo, autoři naznačují, že tento posun by mohl být důsledek postupné introgrese fenotypu vypouštěných jedinců mezi volně žijící populace. Tyto studie však nejsou podpořeny genetickými daty, která by jednoznačně identifikovala původ měřených jedinců. Pozorované změny v morfologii zobáku tak nemusejí nutně souviset s genetickou introgresí vypouštěných jedinců do genomu divoké populace. K pozorovaným posunům mohlo například dojít také následkem změny prostředí či hojně praktikovaného přikrmování kukuřicí, pšenicí nebo rýží (Guillemain et al. 2010).

Lehce dostupná a stravitelná potrava vedla u jedinců ze zajetí i k dalším morfologickým maladaptacím vedoucím ke snížené schopnosti trávení přirozené potravy, efektivita trávení potravy je přitom pro přežití zásadní (Liukkonen-Anttila et al. 2000). Ve Francii byla u jedinců z chovů oproti divoké populaci v důsledku adaptace na lehce stravitelnou potravu zjištěna menší hmotnost svalnatého žaludku. U vypuštěných jedinců odlovených po několika měsících ve volné přírodě však byla jeho hmotnost již srovnatelná s hodnotami zjištěnými v divoké populaci (Champagnon et al. 2012b). Tato data nejsou v úplném souladu s jinou prací na toto téma (Pavlišová 2009), kde se ulovení jedinci původem z chovů vyznačovali naopak větší hmotností svalnatého žaludku a divoká populace větší velikostí žláznatého žaludku, tato práce byla ovšem založena na poměrně malém vzorku. Pozorované rozdíly ve velikosti jednotlivých částí trávicího ústrojí nemusí nutně odrážet geneticky podmíněnou divergenci mezi jedinci z chovů a divokou populací, ale mohou být z velké části dané značnou fenotypovou flexibilitou trávicího traktu, jež byla pozorovaná u migrujících ptáků, včetně kachny divoké (Kehoe et al. 1988, McWilliams & Karasov 2001), což potvrzuje i výše zmíněná studie Champagnona et al. (2012b), kde se rozdíly mezi vypuštěnými jedinci a divokou populací postupně zmenšovaly.

U jedinců z chovů byla ve srovnání s odlovenými divokými jedinci zjištěna také nižší hmotnost srdce a jater (Pavlišová 2009). Pozorované rozdíly by mohly být důsledkem nemožnosti letu a s tím spojeným snižováním výkonnosti organismu kachen v podmínkách chovů (Viscor et al. 1985, Pavlišová et al. 2009). Shodný trend byl zjištěn také u jedinců ze zajetí a z divoké populace u tetřeva hlušce (*Tetrao urogallus*; Liukkonen-Anttila et al. 2000). U mnoha druhů vrubozobých bylo u jedinců ze zajetí zjištěno také snížení absolutního

i relativního objemu mozkovny. Největší redukce byla pozorována u plně domestikovaných forem, tj. u husy a kachny domácí. Do jaké míry má pozorovaná redukce vliv na uspořádání mozku, chování nebo kognitivní schopnosti ovšem není zcela jasné (Guay a Iwaniuk 2008).

#### **1.4.2 Rozdíly v chování**

Uvolnění selekce a přítomnost jiných selekčních tlaků v podmínkách v zajetí mohou vést k postupným změnám přirozených behaviorálních projevů (Desforges & Woodgush 1975, McPhee 2004). U kachen divokých z chovů byly pozorovány změny v antipredačním i migračním chování, nicméně se jednalo převážně o studie porovnávající chování jedinců vyvíjejících se v odlišném prostředí. Podobně jako v případě morfologické a anatomické divergence, z nich proto nelze jednoduše odvozovat, do jaké míry byly pozorované rozdíly ovlivněny individuálním vývojem v zajetí nebo volné přírodě a do jaké míry byly geneticky fixované.

Stejně jako u domestikované kachny domácí (Desforges & Woodgush 1975) mohla vést absence predace a přítomnost člověka u jedinců z umělých chovů kachny divoké k potlačení přirozeného antipredačního chování. U vypuštěných kachen z farmových chovů byla pozorována menší ostražitost, agregace do velkých skupin a mnohem menší úteková vzdálenost před člověkem než u jedinců z původní populace (Schladweiler & Tester 1972, Stanton et al. 1992, Osborne et al. 2010). Obdobné rozdíly antipredačního a reprodukčního chování však nebyly pozorovány mezi divokou populací a vypuštěnými jedinci ze zajetí, kteří pocházeli z vajec z volné přírody (Lee & Kruse 1973), což naznačuje, že značný podíl pozorovaných rozdílů v chování mezi divokou populací a vypouštěnými jedinci je fixován geneticky.

U vypouštěných kachen divokých bylo také pozorováno snížení migračních tendencí. Již studie z 30. let ukázaly, že jedinci vypouštění z krotkých chovů jsou stálí a postrádají migrační tendence (Lincoln 1934 ex Schladweiler & Tester 1972, Errington & Albert 1936). Také v recentní studii ze Skandinávie (Söderquist et al. 2013) byla zjištěna nižší migrační vzdálenost u vypouštěných jedinců oproti divoké populaci. Ve Švédsku byla průměrná migrační vzdálenost původní populace 676 km oproti 523 km u jedinců z chovů, ve Finsku 1213 km oproti 157 km. Kratší migrační vzdálenost mohla být daná nejen odlišnou migrační strategií, ale také kombinací menší rychlosti migrace a nižším přežíváním vypouštěných jedinců. U jedinců vypuštěných z divoké linie z polodivokých chovů však byly doba odletu, migrační trasy a rychlost migrace stejné jako u divokých jedinců. Migrační chování tak nemusí být ovlivněno

pouze vývojem v zajetí, ale také genetickým pozadím vypouštěných jedinců (Brakhage 1953, Lee & Kruse 1973, Sellers 1973).

## **1.5 Přežívání vypouštěných jedinců**

Výše zmíněné změny mohou u jedinců z chovů vést ke zvýšené mortalitě v přirozených podmínkách. Mnohé studie ukázaly, že míra přežívání vypuštěných jedinců z chovů je ve srovnání s divokými jedinci kachny divoké mnohem nižší (Brakhage 1953, Soutiere 1989, Stanton et al. 1992, Yerkes & Bluhm 1998, Champagnon et al. 2012b, Söderquist et al. 2013). Kromě ztráty přirozeného antipredačního chování (Schladweiler & Tester 1972, Osborne et al. 2010) mohou jedinci ze zajetí trpět vyšší mortalitou v důsledku adaptace na potravu poskytovanou v zajetí, což může vést snížení schopnosti získávání i efektivního trávení přirozené potravy ve volné přírodě (Kehoe et al. 1988, Champagnon et al. 2010, Champagnon et al. 2012b). Nejvyšší míry mortalita dosahuje krátce po vypuštění a v průběhu lovecké sezóny (Schladweiler & Tester 1972, Osborne et al. 2010). Přestože je slovitelnost vypouštěných jedinců vysoká (Hůda et al. 2001) a jejich přežívání nízké i v nepřítomnosti loveckého tlaku ze strany člověka, určitý počet vypouštěných jedinců, byť v řádech jednotek procent, přežívá do další hnízdní sezóny, a může se tak zapojit do reprodukce (Osborne et al. 2010, Champagnon et al. 2012b, Söderquist et al. 2013). Cheng et al. (1978, 1979) zjistili, že mezi populacemi z chovů a divoké linie může existovat behaviorální reprodukční bariéra, v podmínkách v zajetí preferovali samci jako partnerku samici kachny divoké ze stejné linie. Párování s jedinci z původní populace a úspěšné vyvedení mláďat samic z chovů ve volné přírodě přesto pozorováno bylo (Točka 1972, Osborne et al. 2010, Champagnon et al. 2011). Morfologické, behaviorální i případné fyziologické změny by se tak mohly v případě jejich genetické fixace přenášet i na volně žijící populace a mít tak negativní vliv na jejich fitness a v konečném důsledku i jejich početnost (Ford 2002, Araki et al. 2007, Champagnon et al. 2012a).

## **1.6 Common garden experiment**

Dosavadní studie zabývající se fenotypovou divergencí populací kachny divoké z chovů od volně žijících populací porovnávaly až na výjimky především jedince, jejichž individuální vývoj probíhal v odlišných podmínkách volné přírody a zajetí (např. Byers & Cary 1991, Champagnon et al. 2010, Söderquist et al. 2013). Na vývoj kvantitativních znaků mají během života ovšem značný vliv faktory vnějšího prostředí, takže výsledný fenotyp je určen dvěma

složkami, genetickou a environmentální. Stejný genotyp tedy může vytvářet odlišné fenotypy v závislosti na prostředí (Bull 1987, Stearns 1989). Závěry výše zmíněných studií tak neumožňují určit, zdali jsou případné pozorované rozdíly determinované geneticky nebo fenotypovou plasticitou daného znaku. Jedním z metodických přístupů, jak odstranit složku vlivu prostředí na výsledný fenotyp jedince a odlišit tak případný vliv fenotypové plasticity od genetického pozadí sledovaného znaku, je tzv. common garden experiment, tj. experiment společné zahrady, tedy pokus, kdy jsou jedinci z dvou či více populací přeneseny do stejného prostředí (Ljungfeldt et al. 2014). Při studiu ptáků se využívá také termín „common aviary experiment“, tj. experiment společné voliéry (Tschirren et al. 2008). Přestože rozvoj molekulární genetiky v současné době umožňuje přímý pohled na genetickou variabilitu a genetickou determinaci některých znaků (Jensen & Andersson 2005, Čížková et al. 2012), je díky své technologické nenáročnosti common garden experiment stále využívaným nástrojem evolučně ekologických studií (Tschirren et al. 2008, Homberger et al. 2013, Miranda et al. 2013, Ljungfeldt et al. 2014).

Zde prezentovaná práce si klade za cíl porovnat prostřednictvím common garden experimentu fenotyp mláďat kachny divoké z volně žijící populace a z intenzivních chovů při vývoji ve stejných podmínkách od stadia vejce. Pro zachycení případné fenotypové divergence mezi těmito populacemi byl proveden multidisciplinární pokus, který byl zaměřen nejen na růstové parametry mláďat, ale také jejich hematologické a imunitní parametry a projevy chování. Vzhledem k absenci prací, jež by u kachny divoké porovnávaly fyziologické znaky či imunitní odpověď mezi volně žijícími populacemi a populacemi ze zajetí, byly u kachňat sledovány hematologické parametry, jako jsou diferenciální počet leukocytů a poměr imaturních erytrocytů. Diferenciální počet leukocytů, stanovující poměrové zastoupení jednotlivých typů leukocytů v krvi jedince, je v ekologických studiích často využívaným hematologickým parametrem (Ots et al. 1998, Vinkler et al. 2010, Svobodová et al. 2013). V periferní krvi ptáků lze odlišit pět typů leukocytů: lymfocyty, heterofily, eozinofily, basofily a monocyty (Lucas a Jamroz 1961). Granulocyty (heterofily, eosinofily a bazofily) jsou spolu s monocytami buněčnou složkou nespecifické imunitní odpovědi. Jsou to obecně prozánětlivé fagocytické buňky účastnící se antiparazitické a antibakteriální obrany. Monocyty také spolupracují se specifickou částí imunity zastoupenou zde lymfocyty, jež poskytují i protivirovou obranu (Harmon 1998, Campbell & Ellis 2007). Diferenciální počet leukocytů je nejen druhově specifický, ale na vnitrodruhové úrovni závisí i na momentálním fyziologickém stavu jedince (Villegas et al. 2004, Davis et al. 2008, Davis 2009). Například poměr heterofilů

ku lymfocytům (dále jen poměr H/L), bývá často využíván jako indikátor dlouhodobého stresu (Gross & Siegel 1983, Vleck et al. 2000, Davis et al. 2008). Počet polychromatických imaturních erytrocytů bývá často sledovaným parametrem při studiu patologických anemických stavů, při kterých se jejich zastoupení zvyšuje (Buckley 1977, Yamato et al. 1996, Lang et al. 2015). Vyšší počet imaturních erytrocytů je však typický také u mláďat (Campbell & Ellis 2007, Vinkler et al. 2010). Zastoupení imaturních erytrocytů by mohlo u zdravých adultních jedinců ptáků odrážet rychlost krvetvorby a tak rychlost metabolismu a u juvenilních jedinců rychlost růstu (Vinkler et al. 2010). Ke zhodnocení funkce nespecifické imunitní odpovědi (Scotti et al. 2015) byla mezi těmito populacemi porovnána také účinnost komplementového systému, tj. souboru asi 40 sérových a membránových glykoproteinů, tvořícího jednu z hlavních složek nespecifické humorální imunity. Tento systém za prvé opsonizuje (označuje) buď poškozené tělu vlastní buňky, nebo cizorodé buňky patogena (Murphy et al. 2008). Za druhé v případě, že rozpoznaná buňka nemá efektivní obranný mechanismus (zdravé tělu vlastní buňky mají), se spustí autokatalytický řetězec, který vyústí ve složení komplexu MAC (Membrane attack complex) tvořícího v membráně obrovský pór, což vede k okamžité smrti buňky (Esser 1994).

Behaviorální projevy byly mezi populacemi z chovů a volné přírody ve většině prací porovnávány u jedinců vyvíjejících se v odlišných podmínkách. Případná divergence v chování tak byla posouzena pomocí jednoduchého behaviorálního testu, tzv. open field testu. V open field testu je zvíře vystaveno neznámému prostředí, ze kterého je mu ohrazením bráněno v úniku (Suarez & Gallup 1983). Open field test byl původně využíván ke studiu emocionality u laboratorních hlodavců (Hall 1934), ale našel své uplatnění také při testování hospodářských zvířat (Kilgour 1975, Jensen et al. 1997), při farmakologickém a toxikologickém výzkumu vlivu léčiv či toxinů na laboratorní zvířata (Ferguson & Bowman 1990, Rex et al. 1998, Prut & Belzung 2003) a dodnes je často využívaným testem pro studium explorační a emocionality u rozličných živočišných skupin – kromě hlodavců například také u plazů či ptáků (Ossenkopp 1980, Frynta 1992, Dingemans et al. 2002, Trnák et al. 2011).

Jelikož nebylo kontrolováno prostředí parentální generace, je limitací zvoleného designu pokusu vliv tzv. maternálních efektů. Prostor, ve kterém se samice pohybuje, může ovlivnit její růst, kondici a fyziologický stav, který může být přenesen na potomstvo skrze alokaci zdrojů do vajec (např. množství živin ve žloutku, hormony, imunoglobuliny), které mohou ovlivnit vývoj potomstva a jejich následné přežívání (Schwabl 1996, Gil 2003, Pihlaja et al. 2006). Získané výsledky tak musí být interpretovány s ohledem na tuto skutečnost.

## ***2 Cíle práce***

Hlavním cílem této studie je zhodnocení divergence fenotypu kachňat kachny divoké z volně žijící populace a z populace z intenzivních chovů. Dosavadní studie věnující se této problematice ve většině případů opomíjely efekt odlišných podmínek při vývoji v odlišném prostředí chovů a volné přírody. Pomocí experimentálního odchovu kachňat z vajec z komerčních chovů a vajec z volné přírody ve stejných podmínkách (tzv. common garden experiment) si tato práce klade za cíl zjistit, zdali jsou případné rozdíly ve fenotypu výsledkem genetické diferenciace vlivem odlišných selekčních tlaků a evolučních procesů nebo zdali jsou dané fenotypovou plasticitou vyplývající z odlišných podmínek prostředí v chovech a volné přírodě. Vzhledem k odlišným selekčním tlakům na tyto populace a pozorované genetické diferenciaci a snížení genetické variability u kachen divokých z intenzivních chovů (Čížková et al. 2012) testuje tato práce předpoklad, že i přes standardizované podmínky při jejich vývoji se bude fenotyp kachňat z chovů a volné přírody odlišovat.

Hlavními cíli práce jsou:

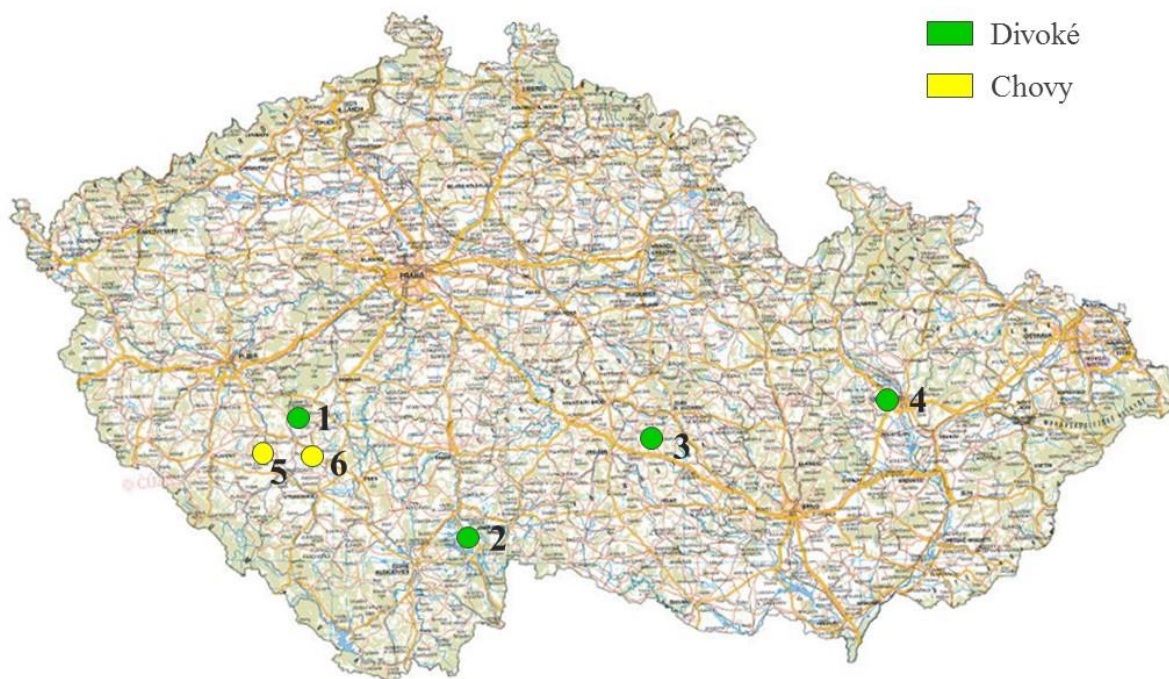
- Porovnat morfologické parametry a růst mezi kachňaty z intenzivních chovů a volně žijící populace.
- Analyzovat hematologické parametry, jako je diferenciální počet leukocytů, diferenciální počet imaturních erytrocytů, a bakteriolytickou aktivitu komplementu a zjistit případné rozdíly a jejich dynamiku v průběhu rané ontogeneze mezi populacemi z chovů a z divoké populace.
- Pomocí jednoduchého behaviorálního testu posoudit, zda jsou některé projevy chování u kachňat z volné přírody a z intenzivních chovů odlišné.



### 3 Metodika

#### 3.1 Chov zvířat a plán pokusu

Common garden experiment probíhal v roce 2014 v časovém rozmezí od začátku května do začátku července v akreditovaných stájích FAPPZ ČZU. Vejce pocházející z volně žijící populace ( $n = 37$ ) byla sebrána na 4 lokalitách (Obr. 3.1). Na těchto lokalitách k vypouštění buď vůbec nedochází, nebo se na nich na základě výsledků genetické studie Čížkové et al. (2012) vyskytovaly kachny divoké s genotypem typickým pro kachny z chovů s četností kolem pouhých 5 %. Z hnízd v divoké populaci bylo podle počtu nakladených vajec odebráno 1 – 2 vejce. Vejce z intenzivních chovů ( $n = 64$ ) pocházela z registrovaných kachních farem Mysliveckého sdružení Stráže Lnáře a Klatovského rybářství a.s. Vejce z chovů byla náhodně vybrána ze snůšky z jednoho dne, pocházela tedy, vzhledem k frekvenci snášení jedno vejce za den, od různých samic.



**Obr. 3.1:** Mapa lokalit původu vajec. 1 – Hvožd'any ( $n = 8$ ), 2 – Novosedly nad Nežárkou ( $n = 2$ ), 3 – Bohdalov ( $n = 12$ ), 4 – okolí Olomouce ( $n = 15$ ), 5 – Klatovské rybářství a.s. ( $n = 24$ ), 6 – MS Stráže Lnáře ( $n = 40$ ). Upraveno z <https://geoportal.gov.cz/web/guest/map>.

Vejce byla mechanicky očištěna, individuálně označena lihovým fixem, zvážena na elektronické váze s přesností 0.1 g PCB 6000-0 (KERN & SOHN GmbH, Německo)

a digitálním posuvným měřítkem s přesností na 0.01 mm (Kinex, Česká republika) byla změřena jejich maximální délka a šířka, z nichž byl vypočten tvarový index vajec jako poměr maximální šířky ku délce vejce (Anderson et al. 2004) a jako parametr velikosti objem vajec. Objem vajec byl vypočítán ze vztahu:  $V_{\text{vejce}} = K_V \times D \times \bar{S}^2$ , kde D je délka vejce,  $\bar{S}$  šířka vejce a  $K_V$  objemová konstanta, jejíž hodnota byla u kachny divoké na základě empirických dat stanovena na  $K_V = 0.515$  (Hoyt 1979). U vajec z volně žijící populace byla též odhadnuta míra nasezelosti pomocí prosvětlovačky vajec dle Wellera (1956). Vejce byla inkubována v automatické skříňové líhni OvaEasy 190 (Brinsea, USA, Obr. 3.2a), při teplotě 37.5 °C a relativní vzdušné vlhkosti 50 % a v 180minutových intervalech automaticky otáčena. Konstantní vlhkost byla udržována pomocí automatické vodní pumpy. V desetidenních intervalech byla vejce opětovně zvážena a prosvícena a neoplozená vejce a vejce s uhynulými zárodky byla vyřazena. 25. den inkubace bylo vypnuto otáčení vajec a teplota v líhni byla snížena na 37.3 °C a vlhkost zvýšena na 80 %. Naklovaná vejce byla jednotlivě spolu s lístkem s kódem vejce dána do pytlíků ze síťoviny (Hořák & Albrecht 2007), aby bylo možné jednoznačně určit identitu mláďat (Obr. 3.2c). Vylíhnutá kachňata byla v líhni ponechána dalších 12 – 18 hodin do jejich úplného oschnutí. Jako 1. den věku je počítán den, kdy byla kachňata vyndána z líhně. Z celkových 101 vajec se vylíhlo 69 mláďat, 26 divokých a 43 z chovů.



**Obr. 3.2:** Inkubace vajec: a – automatická líheň Brinsea OvaEasy 190; b – označená vejce, v horní řadě vejce z chovů, ve spodní řadě vejce z volně žijící populace; c – čerstvě vylíhnuté kachně v pytlíku ze síťoviny.

Po vyndání z inkubátoru byla kachňata individuálně označena otevřenými barevnými kroužky se zámečkem, které byly v průběhu experimentu dle potřeby vyměňovány za větší velikost. Kachňata byla rozdělena do klecí s roštem po skupinách 8 jedinců stejného původu,

na tento rošt bylo vzhledem k rozestupu mřížů položeno celoplastové pletivo Polynet s oky 15 x 15 mm (Obr. 3.3). Rozměry klecí byly 88 × 48 × 45 (d/š/v). V místnosti s ubikacemi byla udržována teplota v rozmezí 22 °C ± 1 °C, po dobu prvního týdne věku kachňat byly jednotlivé klece navíc přitápěné pomocí infražárovek (75 W, Exo Terra), pod kterými dosahovala teplota 28 °C. Světelný režim byl upraven na 14 hodin světlo/10 hodin tma (světelná fáze: 6 – 20 h SEČ). Kachňata byla v obou letech krmena *ad libitum* granulovaným krmivem KCH-1 pro výkrm kachňat (VELAS a.s., Česká republika) a měla neustálý přístup k vodě z kloboukové napáječky.

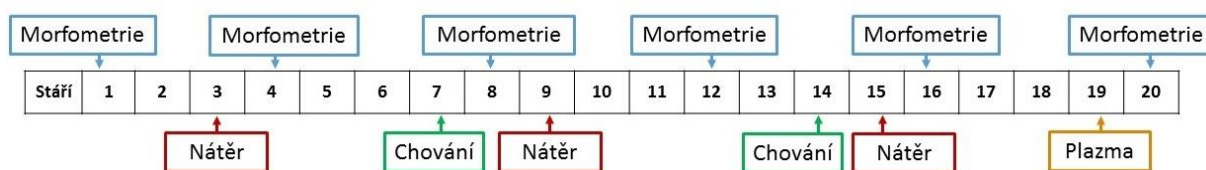


**Obr. 3.3:** Podmínky chovu kachňat.

V průběhu pokusu (Obr. 3.4) byla kachňata pravidelně vážena, měřena a focena (kap. 3.2). Dvakrát byla zvířata vystavena jednoduchému behaviorálnímu open field testu (kap. 3.4). Taktéž jim byl třikrát odebrán vzorek krve z jugulární žíly pro vyhotovení krevních nátěrů pro následnou analýzu hematologických parametrů a před ukončením experimentu byl kachňatům odebrán vzorek krve pro získání plazmy pro stanovení bakteriolytické aktivity komplementu (kap. 3.3). Měření či následná analýza jednotlivých morfologických, hematologických a behaviorálních parametrů byly prováděny vždy pouze jedním experimentátorem, aby nedošlo ke zkreslení dat. Experiment byl ukončen 20. den věku kachňat. Po ukončení pokusu byla zvířata předána zájemcům o jejich další nevědecké využití (původním komerčním chovatelům, myslivcům apod.).

V předcházející sezóně 2013 proběhl obdobný pokus v podobném rozsahu, byl však značně narušen úhynem všech zárodků ve značné části vajec z důvodu závady teplotního senzoru v líhni, jež vedla k jejich přehřátí, což se citelně projevilo na velikosti souboru kachňat z volné přírody. Pokus v této sezóně byl brán jako pilotní, sloužící k vyzkoušení používaných metod a zdokonalení chovných podmínek.





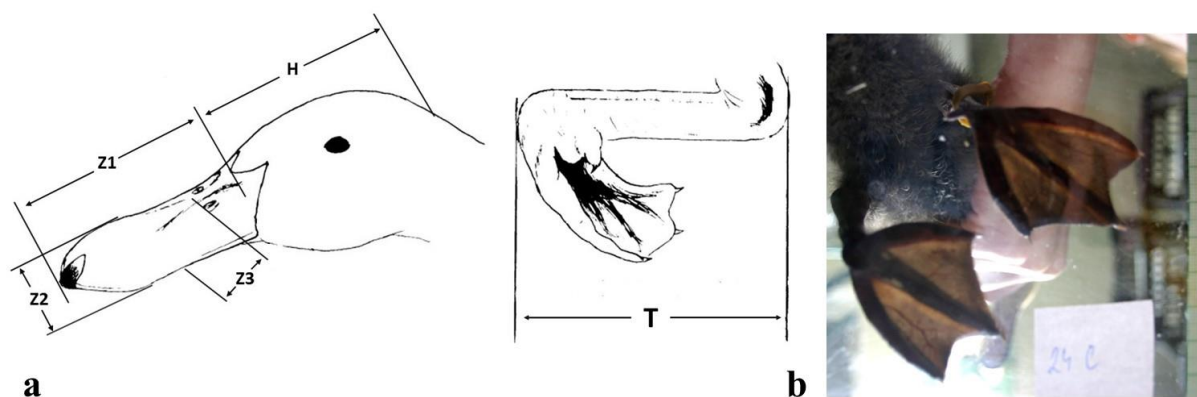
**Obr. 3.4:** Schéma harmonogramu pokusu. Morfometrie – měření morfologických parametrů, Nátěr – odběr vzorku krve ke zhotovení krevního nátěru, Chování – vystavení behaviorálnímu open field testu, Plazma – odběr vzorku krve pro stanovení aktivity komplementu z plazmy.

### 3.2 Morfologické a růstové parametry

Ke zhodnocení morfologické variability a růstu kachňat a posouzení případných rozdílů mezi kachňaty pocházejícími z populace z volné přírody a z chovů byla kachňata pravidelně analyzována pomocí postupů klasické biometrie. Kachňata byla změřena, zvážena a vyfotografována 1. den věku po vyndání z líhně. Stejně morfologické parametry byly získávány od 4. dne věku v 4denních intervalech až do 20. dne věku, kdy proběhlo poslední měření, celkem tedy šestkrát.

Kachňata byla vážena na elektronické váze PCB 6000-0 (KERN & SOHN GmbH, Německo) s přesností 0.1 g a pomocí digitálního posuvného měřítka (Kinex, Česká republika) s přesností 0.01 mm byly u kachňat měřeny následující rozměry (Obr. 3.5a): délka levého i pravého běháku (tarsometatarsus) od vnějšího ohybu intertarzálního kloubu po vnější ohyb prstů, ze kterých byla následně spočítána průměrná délka tarzu („tarzus“), délka zobáku od nehtu po okraj opeření („délka zobáku“), maximální šířka zobáku v jeho distální části („šířka zobáku“), výška zobáku na úrovni distálního okraje nozder („výška zobáku“) a délka hlavy od špičky zobáku po nejzazší výběžek týlní kosti. Pro následnou analýzu jsme od tohoto rozměru odečetli „délku zobáku“, aby byl odstraněn vliv případné variability v délce zobáku („délka hlavy“).

Následně byla kachňatům fotoaparátem Canon EOS350D vyfocena přes průhledné plexisklo ze spodní strany zadní končetina (Obr. 3.5b). Na plochu plexiskla bylo vždy přiloženo velikostní měřítko (milimetrový papír) a cedulka s kódem jednotlivce. Ze získaných fotografií byl následně pomocí programu ImageJ 1.48 (Rasband W. S., National Institutes of Mental Health, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>) zjištěn rozměr plochy levého plováku a délka levého 3. prstu z 6. měření.



**Obr. 3.5:** Měření morfologických parametrů kachňat: a – měřené rozměry: Z1 – délka zobáku, Z2 – šířka zobáku, Z3 – výška zobáku, H – délka hlavy, T – délka tarzu (upraveno z Byers & Cary 1991), b – fotografický podklad pro analýzu plochy plováku a délku 3. prstu.

### 3.3 Hematologické parametry a aktivita komplementu

K analýze hematologických parametrů byl z krevního nátěru celkem třikrát v šestidenních intervalech stanoven diferenciální počet leukocytů a počet imaturních erytrocytů k celkovému počtu erytrocytů (viz Obr. 3.4). Jedná se o metody založené na manuální identifikaci krevních buněk. Pro stanovení diferenciálního počtu leukocytů a počtu imaturních erytrocytů byl kachňatům z jugulární žíly odebrán heparinizovanou inzulinovou stříkačkou vzorek krve (cca 20  $\mu$ l) ke zhotovení krevních nátěrů. V laboratoři byly tyto nátěry obarveny pomocí činidla Wright-Giemsa modified (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). Skla byla ponořena na 30 – 60 s do kyvety s tímto roztokem a následně přendána na 5 minut do kyvety s destilovanou vodou a nakonec jednotlivě opláchnuta a osušena.

Obarvené krevní nátěry byly poté analyzovány pod světelným mikroskopem Olympus CX-41 (Olympus, Japonsko) se zvětšením 1000x. Ke stanovení diferenciálního počtu leukocytů bylo spočteno poměrové zastoupení lymfocytů, heterofilů, eozinofilů, basofilů a monocytů ve vzorku 120 – 160 leukocytů na roztěrovém skle. Jednotlivé typy leukocytů byly určeny dle Lucas a Jamroz (1961). Z výsledků byl stanoven poměr H/L. Samotné stanovení diferenciálního počtu leukocytů provedla Monika Dvořáčková z ČZU.

Počet imaturních erytrocytů ku celkovému počtu erytrocytů byl stanoven z fotografií pořízených z náhodně vybraných míst při stanovování diferenciálního počtu leukocytů fotoaparátem Olympus E330 (Olympus, Japonsko). Pro každý vzorek bylo analyzováno 5 – 10 fotografií, pro každý vzorek tak bylo zachyceno celkem cca 800 – 1500 erytrocytů. Fotografie byly převedeny do černobílého 1bitového formátu v programu Corel PHOTO-PAINT X6

(Corel Corporation, Kanada) tak, aby byla viditelná pouze jádra erytrocytů. Pokud bylo třeba, sousedící jádra byla ručně oddělena a jiné buňky či případné nečistoty byly smazány. Z takto upraveného snímku byl pomocí programu ImageJ 1.48 (Rasband W.S., National Institutes of Mental Health, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>) automaticky spočítán celkový počet erytrocytů. Ve stejném programu pak byly na původních snímcích manuálně identifikovány a spočteny imaturní polychromatická stadia erytrocytů a lyzované buňky (dle Lucas & Jamroz 1961). Následně byl stanoven poměr imaturních erytrocytů ku celkovému počtu erytrocytů.

Dále byla ze vzorku plazmy stanovena celková bakteriolytická aktivita komplementu. Pro získání vzorku plazmy k bioluminiscenčnímu stanovení aktivity komplementu bylo kachňatům 19. den věku odebráno 200 – 500  $\mu$ l krve z jugulární žíly heparinizovanou inzulinovou stříkačkou. Odebraná krev byla poté centrifugována v mikrozkmavce k oddělení plazmy a krvinek. Oddělená plazma byla zamrazena a skladována při teplotě  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , hematokrit byl smíchán s ethanolem a uložen do  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

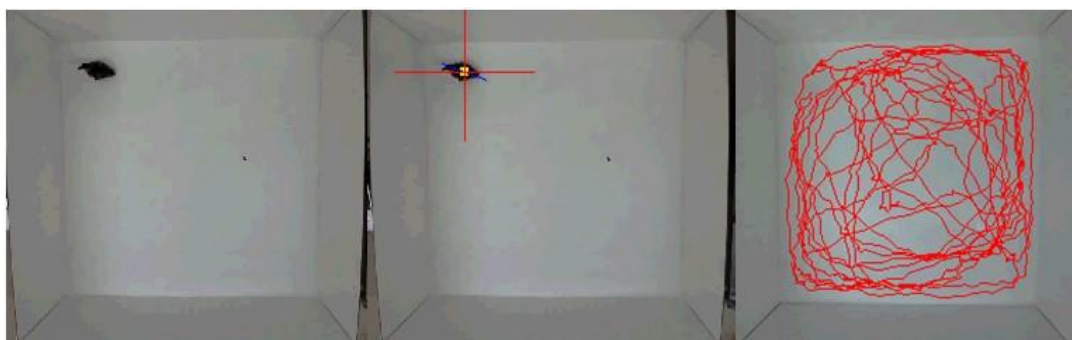
Samotná analýza aktivity komplementu byla provedena pracovníky Ústavu experimentální biologie na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity v Brně pod vedením RNDr. Pavla Hyršla, PhD. Použitá luminiscenční metoda využívá geneticky modifikovaného bioluminiscenčního kmene gramnegativní bakterie *Escherichia coli* K12 (pEGFPluxABCDEamp), nesoucího v plasmidech gen pro enzym luciferázu (Atosuo et al. 2013). Intenzita emitovaného světla měřená luminometrem pozitivně koreluje s viabilitou bakterií, úbytek světelného signálu v reakční směsi se vzorkem krevní plazmy tak odráží klesající viabilitu bakterií (Buchtíková et al. 2011). V našem případě bylo k 25  $\mu$ l vzorku bakterií (65000 buněk na jamku) přidáno 25  $\mu$ l krevní plazmy kachňat. Emise světla živých bakterií byla poté měřena luminometrem LM01-T (Immunotech, Česká republika) po dobu 2 hodin při teplotě  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Jednotlivé vzorky byly analyzovány v duplikátech. Jako kontrola sloužila tepelně inaktivovaná plazma. Aktivita komplementu byla vyjádřena jako čas potřebný pro usmrcení 50 % bakterií v reakční směsi. Tato hodnota se odečítá z kinetické křivky grafu závislosti luminiscence na čase, přičemž platí, že kratší čas indikuje vyšší aktivitu komplementu.

### **3.4 Behaviorální test**

K posouzení potenciálních rozdílů v chování mezi divokou populací a populací z chovů byl použit jednoduchý behaviorální test, tzv. open field test (OFT). Chování zvířat v OFT bylo testováno 7. a 14. dne věku zvířat (Obr. 3.4). Test byl proveden u všech jedinců dvakrát ke

zhodnocení opakovatelnosti jednotlivých prvků chování a také jejich případné změny v čase. Pokus byl prováděn v bílé čtvercové aréně o rozměrech 100 x 100 x 40 cm (d/š/v) za silného umělého osvětlení (lineární zářivky) v době od 10 do 18 hodin SEČ. Aréna byla umístěna ve stejném objektu jako ubikace kachňat. Kachně bylo do experimentální místnosti přeneseno v neprůhledné přepravce na drobná zvířata a opatrně umístěno do středu arény. Samotný pokus začal odchodem experimentátora z místnosti a trval 5 minut. Průběh experimentu byl zaznamenán kamerou HD Webcam C310 (Logitech) umístěnou cca 2 metry přímo nad arénou. Po každém pokusu byl zjištěn počet defekací a vyčištěna testovací aréna. Jelikož pořadí, v jakém jsou zvířata vyndávána z ubikace a testována, by mohlo mít potenciálně vliv na jejich chování, byla kachňata vybírána náhodně a pořadí testovaných kachňat v rámci jedné klece bylo zaznamenáváno a jeho případný vliv na jednotlivé prvky chování statisticky otestován.

Následná observační analýza definovaných prvků chování a automatická analýza pohybu zvířat z pořízených videozáznamů byly provedeny pomocí volně dostupného softwaru ETHOWATCHER (Crispim et al. 2012, [www.ethowatcher.ufsc.br](http://www.ethowatcher.ufsc.br)). Výstupem automatické analýzy pohybu zvířete byla celková délka jeho trajektorie (cm; Obr. 3.6).



**Obr. 3.6:** Vyhodnocování dráhy pohybu zvířete v OFT pomocí automatického sledovacího modulu programu ETHOWATCHER.

Jednotlivé prvky chování (Tab. 3.2) byly posuzovány z hlediska jejich latence (doba (s) mezi počátkem testu a prvním projevením daného prvku chování) a celkové doby trvání (s) nebo jejich latence a četnosti. Pokud daný prvek chování za celou dobu testu (300 s) nenastal, byla jako latence dosazena nadsazená hodnota 400 s. Kromě prvků chování v průběhu samotného pětiminutového testu byla ze záznamu vyhodnocena též reakce kachně na příchod experimentátora, a to jako přítomnost/nepřítomnost kontaktního hlasu.

**Tab. 3.2:** Sledované projevy chování kachňat v OFT a jejich popis.

Prvek chování	Projevy daného prvku chování	Měřené parametry
Chůze	Pomalá i rychlá chůze, přesun z místa na místo	Stav - latence, doba trvání
Vokalizace	Pípání	Stav - latence, doba trvání
Sezení	Sezení, břicho i trup se dotýkají podkladu	Stav - latence, doba trvání
Defekace	Vyloučení trusu	Akce - latence, četnost
Čištění	Čištění, úprava peří zobákem nebo nohou, otřepání těla, otřepání hlavou	Akce - latence, četnost
Klování	Klování do podlahy a stěn arény, ochutnávání trusu	Akce - latence, četnost
Skákání	Snaha o výskok z arény, končetiny ztrácí kontakt s podlahou arény	Akce - latence, četnost

### 3.5 Určení pohlaví

Vzhledem k tomu, že určení pohlaví mláďat kachny divoké podle morfologických znaků je obtížné, bylo pohlaví jako jedna z vysvětlujících proměnných stanoveno molekulární analýzou DNA pomocí metody polymerázové řetězové reakce (PCR, z anglického Polymerase chain reaction) a elektroforetické separace vzniklých produktů. Pro určení pohlaví u ptáků se využívá CHD (Chromo-helicase DNA binding protein) genu, jež se po jedné kopii nachází na pohlavních chromozomech. Sekvence tohoto genu obsahuje intron, který má různou délku na chromozomu Z a W. Při amplifikaci homologních úseků na obou chromozomech pak vznikají produkty o různé délce, jež mohou být následně elektroforeticky separovány. Samice je pak indikována dvěma pruhy (ZW), samec jedním pruhem (ZZ; Griffiths et al. 1998).

Pro analýzu pohlaví byly zvoleny primery P2/P8 dle Griffiths et al. (1998). Vzhledem k velmi malému rozdílu v délce fragmentů amplifikovaných primery P2/P8 (10 – 80 bp), a tedy jejich obtížnějšímu rozlišení při separaci na agarózovém gelu (Dubiec & Zagalska-Neubauer 2006), byly vyzkoušeny též primery 2550F/2718R (Fridolfsson & Ellegren 1999), kvůli potížím s optimalizací PCR však nakonec byly využity primery P2/P8.

DNA byla izolována ze vzorků hematokritu uchovávaného v ethanolu při –20 °C, případně z podskořápečné blány, pomocí komerčního DNAeasy Blood and Tissue Kitu (Qiagen, Německo) podle přiloženého protokolu pro zvířecí tkáň. Koncentrace vyizolované DNA byla určena spektrofotometricky (UVS-99 Micro-volume UVS/Vis Spectrophotometer, ACTGene, USA). Požadované fragmenty byly amplifikovány pomocí PCR v LabCycleru (SensoQuest, Německo). PCR reakce o celkovém objemu 14 µl obsahovala 7 µl 1x PPP Master Mix (Top-Bio s.r.o., Česká republika; 75 mM Tris-HCl, 20 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,01% Tween 20,

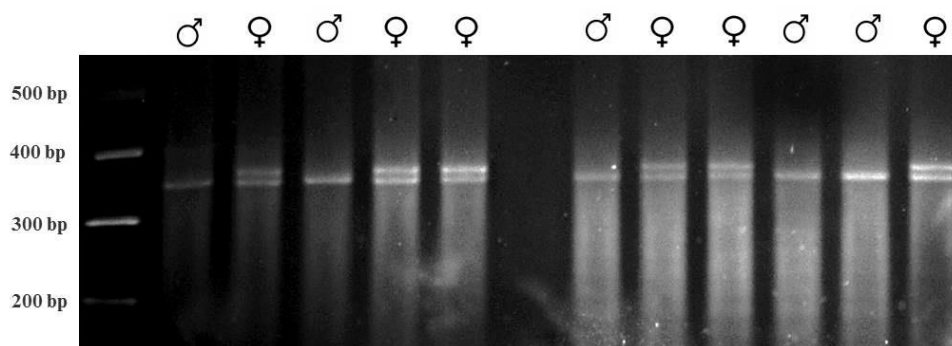


2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 μM dATP, 200 μM dCTP, 200 μM dGTP, 200 μM dTTP, 2.5 U Taq-Purple DNA polymeráza, stabilizátory a aditiva), 10 ng DNA, 10 pmol primeru P2, 10 pmol primeru P8. Teplotní a časový program PCR je uveden v tabulce 3.3.

**Tab. 3.3:** Parametry použité při PCR s využitím primerů P2/P8 (Griffiths et al. 1998).

PCR	Teplota	Doba	Počet cyklů
Úvodní denaturace	94 °C	3 min	1
Denaturace	94 °C	30 s	
Nasednutí primerů	54 °C	30 s	35
Extenze	72 °C	30 s	
Finální extenze	72 °C	5 min	1

Produkty PCR byly separovány elektroforeticky na 3% agarózovém gelu po dobu 2 hodin při 120 V. Poté byl gel barven několik minut v lázni s ethidium bromidem, který slouží k UV vizualizaci DNA. Výsledné proužky byly vizualizovány a snímány pomocí UV transiluminátoru GENi2 (Syngene, UK; Obr. 3.7). U vzorků s jediným proužkem byla PCR dvakrát opakována za účelem snížení možnosti chybného určení samice jako samce.



**Obr. 3.7:** Určení pohlaví: Produkty PCR s využitím primerů P2/P8 separované na 3% agarózovém gelu. První sloupec vlevo je velikostní standard (100 bp ladder).

### 3.6 Statistická analýza dat

Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno v programu R verze 3.1.1. (The R Foundation for Statistical Computing, 2014, <http://www.r-project.org/>). Stěžejní část výsledků je založená na lineárních modelech se smíšenými efekty. Pro všechny analyzované proměnné byl vytvořen počáteční plný model s vysvětlujícími proměnnými a jejich interakcemi, specifikovanými dále

v textu. Nesignifikantní proměnné byly postupně z modelu vyřazovány (tzv. „backward selekce“) až po dosažení minimálního adekvátního modelu (MAM; Crawley 2007), který zahrnoval pouze vysvětlující proměnné se signifikantním efektem (viz Příloha 1 – 11).

Abychom ošetřili nenáhodnost dat v důsledku opakování měření stejných jedinců, byly u smíšených modelů pro každou vysvětlovanou proměnnou použity modely buď s náhodným efektem identity jedinců, identity jedince vnořené (nested) do jeho genetického pozadí (konkrétní chovatelské zařízení u mláďat z chovů a hnízdo, z kterého vejce pocházelo u divokých mláďat), nebo identity jedince vnořené do klece, tedy skupiny, do které bylo mládě v závislosti na jeho původu náhodně přiřazeno. Následně byl na základě likelihood-ratio testu vybrán model s nejvíce parsimoniální strukturou náhodných efektů.

Normalita a heteroskedasticita rozdělení reziduí pro jednotlivé modely byly kontrolovány s využitím diagnostických grafů, jak je popsáno v Pekár & Brabec (2009), a v případě potřeby byla provedena vhodná transformace vysvětlované proměnné. Výsledky všech analýz byly považovány za průkazné na hladině signifikance  $\alpha = 0.05$ .

### **3.6.1 Morfologické a růstové parametry**

Charakteristiky vejce, jako je jejich tvarový index a objem pro všechna vejce a jejich vliv na líhnivost mláďat, byly mezi populacemi z chovů a volné přírody porovnány t-testem, popř. Mann-Whitney U testem. V rámci explorativních analýz byly pomocí t-testu testovány i případné rozdíly morfologických parametrů mezi jednotlivými chovnými zařízeními Klatovského rybářství a.s. a MS Stráže Lnáře. Líhnivost vajec a přežívání mezi divokými kachňaty (dále D) a kachňaty z chovů (dále CH) byly porovnány pomocí chí-kvadrát testu, resp. Fischerova exaktního testu.

Změna morfometrických parametrů v závislosti na věku byla aproximována pomocí polynomicke regrese (polynom prvního až třetího stupně), jak je popsáno v Mirman (2014). Růstové modely byly fitovány pomocí lineárních modelů s náhodnými efekty předpokládající normální rozložení chyb (funkce „lmer“, balíček lme4). Počáteční modely obsahovaly jako vysvětlující proměnné efekt věku mláďat (kódovaný jako ortogonální polynomy prvního až třetího stupně počítané pomocí funkce „poly“ v programu R), dále pak efekt původu a pohlaví a dvojnásobné interakce těchto dvou kategoriálních proměnných. Navíc, vzhledem k značnému rozdílu ve velikosti vajec mezi D a CH populací (Obr. 3.2b, Obr. 4.1a) a silné pozitivní korelaci objemu vejce s hmotností a délkou tarzu vylíhnutých mláďat (Příloha 12), byl do všech modelů jako kovariáta vložen objem vejce (výpočet viz kap. 3.1). Abychom ošetřili nenáhodnost dat

v důsledku opakovaného měření stejných jedinců, byly jako náhodné efekty specifikovány interindividuální rozdíly v růstových parametrech (tj. efekt věku jako prvního až třetího polynomu pro jednotlivé jedince). Stejně jako v jiných případech byl testován a v případě potřeby zohledněn efekt genetického původu a variability mezi klecemi. Některé morfometrické parametry jsou vzájemně úzce korelované (Příloha 12), a proto není vhodné je používat jako samostatné vysvětlované proměnné. Z tohoto důvodu byla analyzována změna hmotnosti s věkem mláďat, změna standardizované délky tarzu (podíl tarzu ku hmotnosti) a změna standardizovaných rozměrů zobáku (poměr délky, šířky a výšky zobáku ku délce tarzu). Vysvětlované proměnné byly logaritmicky transformovány, aby se homogenizoval rozptyl residuálů se zvyšujícím se věkem ve všech případech, kromě délky a šířky zobáku ku tarzu, kde tato transformace měla na rozložení residuálů negativní vliv. Adekvátnost výsledných modelů byla posouzena mimo jiné i na základě vynesení pozorovaných hodnot oproti predikcím výsledných modelů. V případě, že měl objem vejce vliv na daný parametr, byla pro tento parametr zkonstruována predikce pro hypotetické jedince vylíhlé z vajec o průměrném objemu. Plocha plováku v 20. dni věku byla analyzována jako plocha plováku ku délce tarzu pomocí jednoduchého smíšeného modelu stejného modelu bez efektu věku a náhodným efektem byla identita jedince vnořená do efektu klece.

### **3.6.2 Hematologické parametry a aktivita komplementu**

Závislost mezi hematologickými parametry kachňat a jejich původem byla analyzována pomocí lineárních modelů se smíšenými efekty předpokládající normální rozložení chyb (balíček lme4), a to i u dat, kde vysvětlovanou proměnnou bylo vyjádření poměru (např. poměr imaturních erytrocytů ku celkovému počtu erytrocytů).

Diferenciální počty některých typů leukocytů spolu úzce korelovaly (Obr. 4.11), a proto byly identifikovány nejdůležitější gradienty v jejich variabilitě pomocí analýzy hlavních komponent (dále PCA, z anglického principal component analysis) po z-score transformaci jednotlivých proměnných. Na základě „broken stick“ modelu byly signifikantní první dvě osy PCA. První (PC1) korelovala pozitivně s diferenciálním počtem heterofilů a negativně s počtem lymfocytů (Tab. 4.8). Skóry pro tuto osu ovšem silně korelovaly s poměrem H/L (Pearsonův korelační koeficient:  $r = -0.963$ ), a proto byl do dalších analýz namísto PC1 použit samotný poměr H/L (logaritmicky transformovaný). Skóry pro PC2 byly použity jako vysvětlovaná proměnná popisující zastoupení ostatních typů leukocytů (eozinofilů, basofilů, monocytů). Dále byl jako vysvětlovaná proměnná uvažován poměr imaturních erytrocytů ku celkovému počtu erytrocytů (arcsinově transformován). Pevnými efekty v modelu pro tyto

proměnné byly původ, pohlaví, věk (kategorická proměnná), hmotnost, která nejvíce odpovídala stáří, ve kterém byly vytvořeny jednotlivé roztěry (4., 8. a 16. den věku), residuální tarsus (residuály lineárního regresního modelu pro délku tarzu a hmotnost pro jednotlivé skupiny [D a CH]) jako proměnná popisující relativní strukturální velikost kontrolovanou na hmotnost, dvojné interakce mezi věkem, původem a morfologickými parametry a trojné interakce mezi původem, věkem a pohlavím nebo morfologickými parametry. Obdobně byla analyzována i aktivita komplementu (vyjádřena jako čas, za který byla usmrcena polovina bakterií, viz kap. 3.3), s tím rozdílem, že data pro tuto proměnnou byla sebrána pouze ve věku 19. dní, a proto efekt stáří a odpovídající interakce nebyly do modelu zahrnuty.

### 3.6.3 Open field test

Opakovatelnost jednotlivých parametrů chování open field testu (OFT) mezi prvním a druhým měřením byla zjištěna pomocí Spearmanova koeficientu korelace (Williams et al. 2012). Pro odstranění falešně pozitivních efektů mnohačetného testování byly P hodnoty upravené Hommelovou metodou korekce. Případné rozdíly hodnot jednotlivých prvků chování mezi prvním a druhým měřením byly porovnány pomocí párového Wilcoxonova testu. Vzájemné korelace všech prvků chování z obou měření OFT (a stejně tak i diferenciální počty leukocytů) byly vizualizovány pomocí tzv. „heatmap“ vytvořené na základě hierarchického klastrování (Manhattan distance, „average linkage clustering“) korelační matice. Pro předběžný vhled do kontrastu jednotlivých parametrů chování mezi jedinci z divoké populace a z chovů byl použit Mann-Whitney U test. Vliv pořadí, v jakém byla kachňata testována v rámci jedné klece, na jednotlivé prvky chování byl analyzován Spearmanovým korelačním testem. Vzhledem ke vzájemné korelaci některých parametrů (Obr. 4.20) byly vztahy jednotlivých prvků chování z obou měření zhodnoceny pomocí PCA, jež může být při vyhodnocování chování velmi užitečným nástrojem, jelikož umožňuje posouzení vlivu původu kachňat na jejich motivaci, která se může projevovat různými prvky chování. Jednotlivé proměnné byly před výpočtem standardizovány pomocí z-score transformace. Skóry pro první dvě PCA osy (které byly signifikantní na základě „broken stick“ modelu) byly použity jako ortogonální komponenty chování, pro něž byl v lineárních modelech se smíšenými efekty testován efekt původu. Kromě efektu původu byly jako další vysvětlující proměnné uvažovány efekt pohlaví, hmotnost během čtvrtého měření a jejich dvojné interakce.

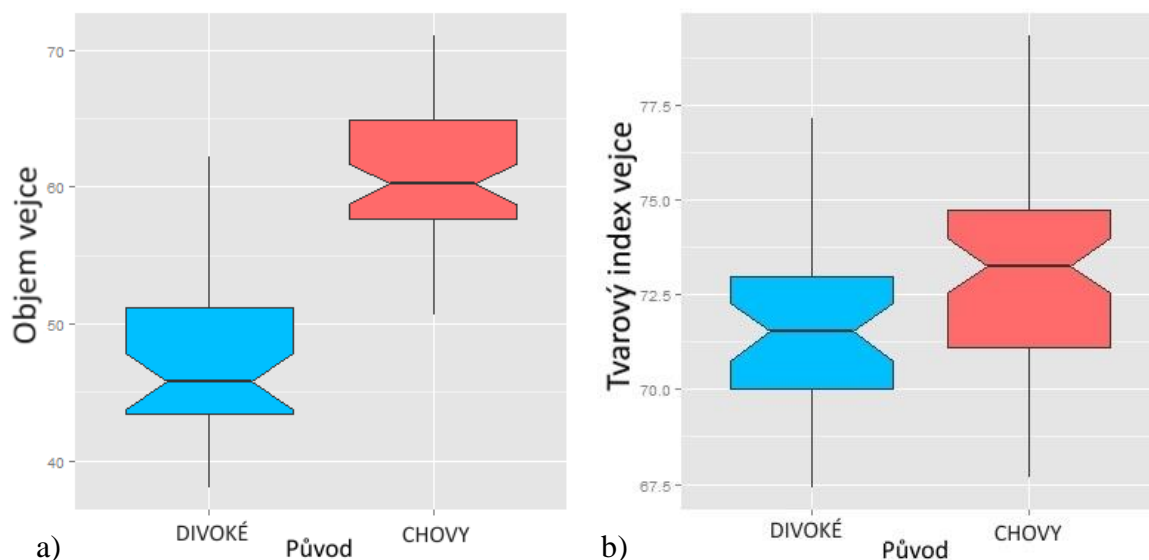
## 4 Výsledky

### 4.1 Morfologické charakteristiky a líhnivost vajec

Z 37 vajec z divoké populace (D) se vylíhlo 26 kachňat a z 64 vajec z chovů (CH) 43 kachňat, tj. líhnivost byla 70.3 % pro divoká vejce a 67.2 % pro vejce z chovů. Na základě chí-kvadrát testu se líhnivost vajec mezi D a CH skupinou nelišila ( $\chi^2 = 0.127$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.7218$ ). Nasezelost CH vajec byla 0 dní, pro zpětně odhadnutou dobu nasezelosti D vajec je medián 2 dny a mezikvartilové rozpětí 0 – 4 dny. Ve věku 2 – 3 dní uhynula 2 mláďata z divoké populace a 3 náhodně vybraná kachňata z chovů byla z experimentu vyřazena z kapacitních důvodů. Mortalita kachňat se v závislosti na původu nelišila (Fisherův exaktní test:  $P = 0.081$ ). Do analýz byla tedy zahrnuta data celkem 24 jedinců z divoké populace a 40 jedinců z chovů.

Pohlaví bylo určeno u všech jedinců. Celkem bylo zjištěno 26 samic a 38 samců. V D skupině tento poměr činil 11 samic ku 13 samcům, v CH skupině 15 samic ku 25 samcům, na základě chí-kvadrát testu se poměr pohlaví mezi těmito skupinami signifikantně nelišil ( $\chi^2 = 0.155$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.693$ ). Vychýlený poměr pohlaví ve prospěch samců u populace z chovů mohl být vzhledem k velikosti vzorku daný pouze efektem náhodného výběru vajec.

Morfologické charakteristiky vajec jsou uvedeny v Příloze 13. Rozdíl mezi objemem vajec z D a CH populace byl signifikantní (Mann-Whitney U test:  $P < 0.001$ ), přičemž větším objemem se vyznačovala CH vejce (Obr. 4.1a). Na líhnivost vajec neměl jejich objem vliv (Mann-Whitney U test:  $P = 0.698$ ). Objem vejce silně koreloval s hmotností vylíhlých mláďat (Pearsonův koeficient korelace:  $r = 0.95$ ,  $P < 0.001$ ). Také tvarový index byl průkazně větší u CH vajec (t-test:  $t = -2.881$ ,  $df = 79.258$ ,  $P = 0.005$ , Obr. 4.1b), CH vejce byla tedy v průměru kulatější a D vejce více podlouhlá. Stejně jako objem vejce neměl tvarový index průkazný vliv na líhnivost vajec (t-test:  $t = 0.398$ ,  $df = 79.078$ ,  $P = 0.692$ ).



**Obr. 4.1:** Krabicový graf a) objemu vajec ( $\text{cm}^3$ ), b) tvarového indexu vajec (%) v závislosti na původu mlád'at. Zářezy znázorňují přibližný odhad 95% konfidenčního intervalu.

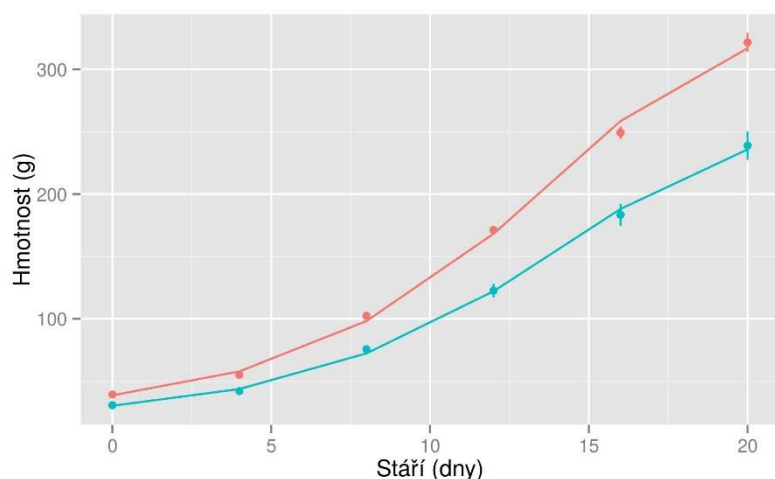
## 4. 2 Růstové parametry mlád'at

Pro analýzu růstových parametrů byla použita data získaná při šesti měření (Obr. 3.4) na vzorku 24 jedinců z D populace a 40 jedinců z CH populace. Průměry naměřených hodnot a jejich střední chyba průměru pro jednotlivé proměnné v jednotlivých měřeních v závislosti na původu jsou uvedeny v Příloze 13.

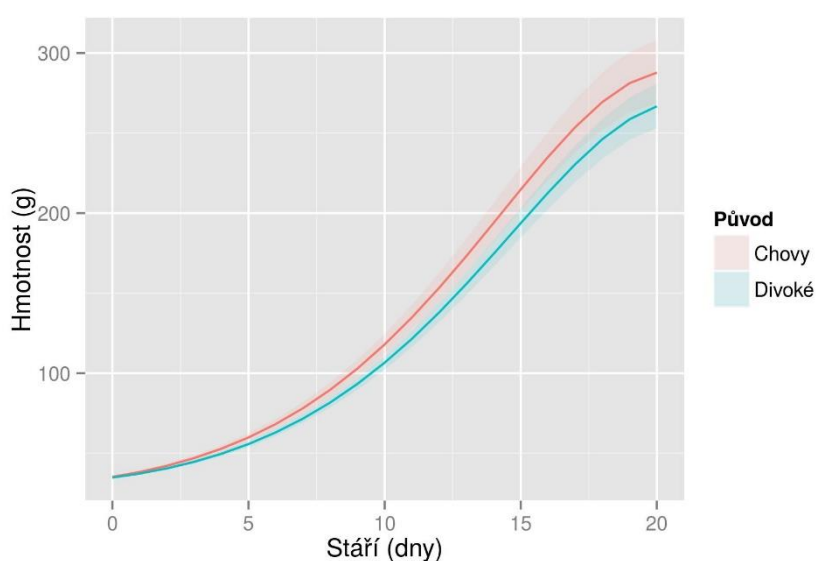
Hmotnost mlád'at se s věkem u CH a D jedinců měnila odlišně vzhledem k signifikantnímu efektu interakce původu a kvadratického efektu věku (MAM viz Tab. 4.1, Obr. 4.2, Obr. 4.3). Vyšší hmotností se vyznačovala mlád'ata z chovů, přičemž nárůst hmotnosti nebyl v čase lineární a postupně se v průběhu pokusu zvětšoval, CH mlád'ata tedy rostla rychleji. Tento rozdíl byl signifikantní i po statistické kontrole na efekt velikosti vejce. Na základě predikcí pro mlád'ata vylíhlá z vajec průměrné velikosti je patrný signifikantní rozdíl v hmotnosti zejména mezi 8. a 16. dnem, poté se již konfidenční intervaly pro D a CH mlád'ata překrývají. (Obr. 4.3). Efekt pohlaví byl mírně nad stanovenou hranicí signifikance ( $P = 0.059$ , viz Příloha 1).

**Tab. 4.1:** Odhad parametrů vysvětlovaných proměnných zahrnutých v MAM pro hmotnost mláďat. Estimate – odhad koeficientů, SE – střední chyba průměru, df – efektivní počet stupňů volnosti odhadnutý pomocí balíčku lmertest, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	Estimate	SE	df	t	P
(Intercept)	2.04	0.008	77.16	267.964	< 0.001
Objem vejce	0.008	0.001	118.24	14.417	< 0.001
Věk (lineár.)	0.805	0.01	65.82	83.321	< 0.001
Věk (kvadr.)	-0.067	0.006	75.83	-11.64	< 0.001
Věk (kubic.)	-0.068	0.004	89.24	-18.704	< 0.001
Původ (Chovy vs Divoké)	-0.032	0.014	95.73	-2.388	0.019
Věk (lineár.) × Původ (Chovy vs Divoké)	-0.023	0.016	64.99	-1.489	0.141
Věk (kvadr.) × Původ (Chovy vs Divoké)	0.024	0.009	81.11	2.726	0.008



**Obr. 4.2:** Graf pozorovaných a predikovaných hodnot hmotnosti mláďat v jednotlivých měřeních v závislosti na původu. Body grafu odpovídají průměrným hodnotám pro danou skupinu během daného měření, chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru pozorovaných hodnot. Růstové křivky udávají predikce MAM pro CH (červená) a D (modrá) jedince, tj. rozdíl těchto křivek je daný jak samotným efektem původu, tak i efektem velikosti vejce.

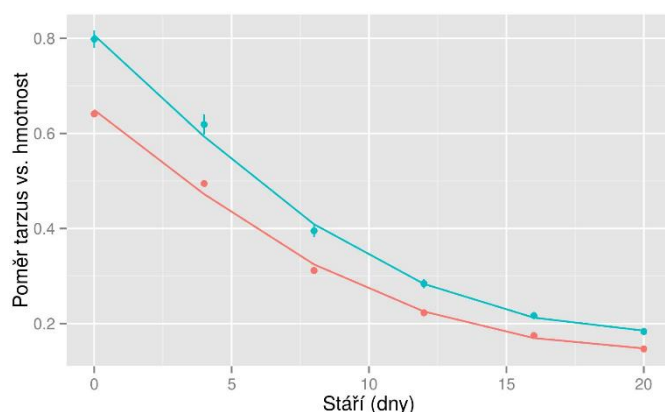


**Obr. 4.3:** Graf růstové křivky hmotnosti mláďat v závislosti na věku a původu ošetřené na velikost vejce (sestrojené na základě predikcí pro mláďata vylíhlá z vajec průměrné velikosti). Barevně vyznačené 95% konfidenční intervaly.

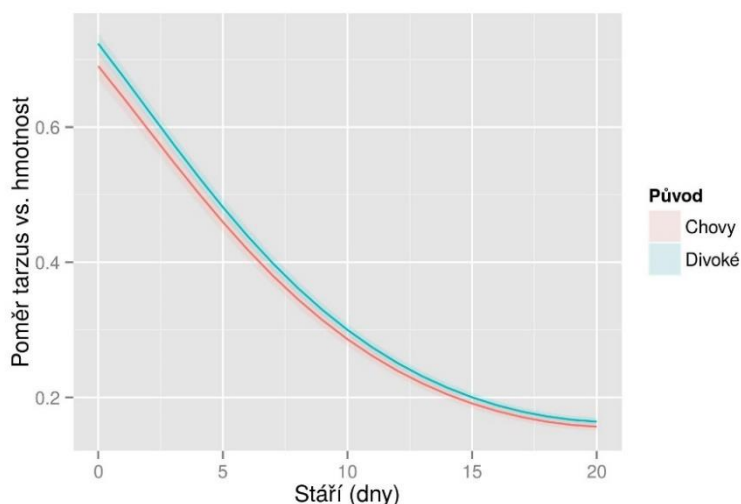
Pro délku tarzu vztaženou k hmotnosti jedince byl signifikantní samotný efekt původu, avšak ne jeho interakce s věkem, a to i po statistické kontrole na vysoce signifikantní efekt velikosti vejce (MAM viz Tab. 4.2). Standardizovaná délka tarzu byla po celou dobu větší u D mláďat, tvar růstových křivek se však mezi D a CH populací neliší (Obr. 4.4, Obr. 4.5). Efekt pohlaví byl nesignifikantní (viz Příloha 2).

**Tab. 4.2:** Odhad parametrů vysvětlovaných proměnných zahrnutých v MAM pro standardizovanou délku tarzu (tarzus/hmotnost). Estimate – odhad koeficientů, SE – střední chyba průměru, df – efektivní počet stupňů volnosti odhadnutý pomocí balíčku lmerTest, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	Estimate	SE	df	t	P
(Intercept)	-0.515	0.006	89.360	-90.473	< 0.001
Objem vejce	-0.006	0.001	64.000	-10.199	< 0.001
Věk (lineár.)	-0.564	0.007	64.040	-84.281	< 0.001
Věk (kvadr.)	0.059	0.004	70.270	15.686	< 0.001
Věk (kubic.)	0.041	0.003	96.450	13.103	< 0.001
Původ (Chovy vs Divoké)	0.020	0.009	64.000	2.212	0.031



**Obr. 4.4:** Graf pozorovaných a predikovaných hodnot standardizované délky tarzu (tarzus/hmotnost) pro jednotlivá měření v závislosti na původu. Body grafu odpovídají průměrným hodnotám pro danou skupinu během daného měření, chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru pozorovaných hodnot. Růstové křivky udávají predikce MAM pro CH (červená) a D (modrá) jedince, tj. rozdíl těchto křivek je daný jak samotným efektem původu, tak i efektem velikosti vejce.



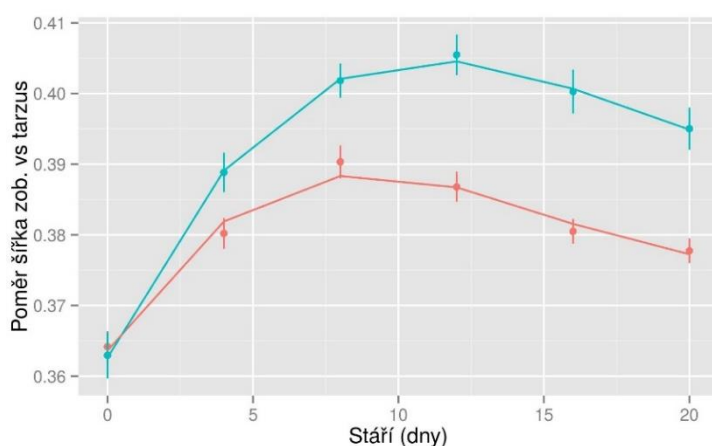
**Obr. 4.5:** Graf růstové křivky standardizované délky tarzu (poměr tarzu ku hmotnosti) v závislosti na věku a původu ošetřené na velikost vejce (sestrojené na základě predikcí pro mláďata vylíhlá z vajec průměrné velikosti). Barevně vyznačené 95% konfidenční intervaly.



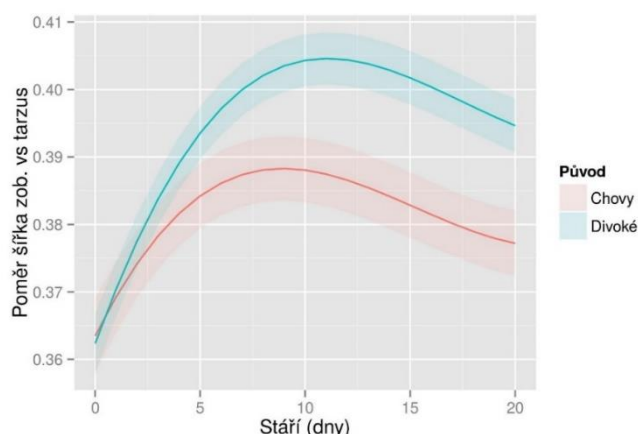
Standardizovaná šířka zobáku (šířka zobáku ku délce tarzu) se s věkem u D a CH jedinců měnila odlišně vzhledem k signifikantnímu efektu interakce původu a lineárního a kvadratického efektu věku. Efekt velikosti vejce nebyl v případě tohoto modelu signifikantní (MAM viz Tab. 4.3). Rozdíl standardizované šířky zobáku se v čase zvětšoval, přičemž vyšším růstem se vyznačovala D mláďata, ovšem od cca 12. dne věku byl tento rozdíl stabilní (Obr. 4.6, Obr. 4.7). Podobně jako v případě standardizované délky tarzu nebyl zjištěn signifikantní efekt pohlaví (Příloha 3).

**Tab. 4.3:** Odhad parametrů vysvětlovaných proměnných zahrnutých v MAM pro standardizovanou šířku zobáku (šířka zobáku/délka tarzu) mláďat. Estimate – odhad koeficientů, SE – střední chyba průměru, df – efektivní počet stupňů volnosti odhadnutý pomocí balíčku lmerTest, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	Estimate	SE	df	t	P
(Intercept)	-0.421	0.002	64.010	-230.201	< 0.001
Věk (lineár.)	0.009	0.003	64.470	3.528	0.001
Věk (kvadr.)	-0.020	0.002	73.130	-13.047	< 0.001
Věk (kubic.)	0.007	0.001	73.910	6.020	< 0.001
Původ (Chovy vs Divoké)	0.014	0.003	64.000	4.620	< 0.001
Věk (lineár.) × Původ (Chovy vs Divoké)	0.018	0.004	64.100	4.078	< 0.001
Věk (kvadr.) × Původ (Chovy vs Divoké)	-0.008	0.002	76.390	-3.483	0.001



**Obr. 4.6:** Graf pozorovaných a predikovaných hodnot standardizované šířky zobáku (poměr šířky zobáku ku délce tarzu) pro jednotlivá měření v závislosti na původu. Body grafu odpovídají průměrným hodnotám pro danou skupinu během daného měření, chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru pozorovaných hodnot. Růstové křivky udávají predikce MAM pro CH (červená) a D (modrá) jedince.

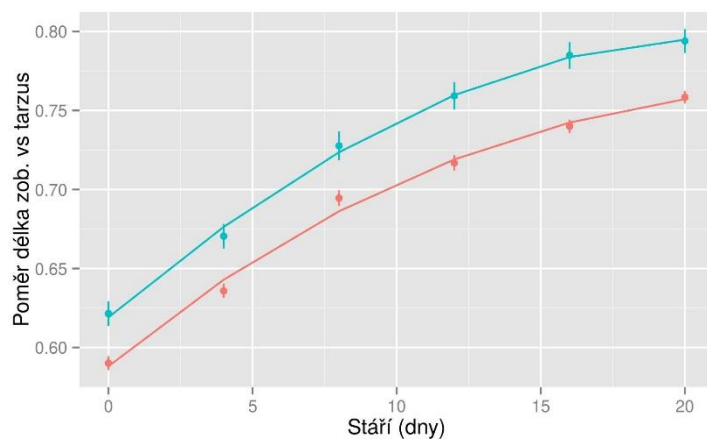


**Obr. 4.7:** Graf růstové křivky standardizované šířky zobáku (poměr šířky zobáku ku délce tarzu) v závislosti na věku a původu sestrojené na základě predikcí MAM. Barevně vyznačené 95% konfidenční intervaly.

Pro standardizovanou délku zobáku (délka zobáku ku délce tarzu) byla signifikantní pouze jeho negativní závislost s velikostí vejce a vliv lineárního a kvadratického efektu věku. Původ, pohlaví i jejich vzájemné interakce a interakce s efekty věku tak nebyly signifikantní (Příloha 4, MAM viz Tab. 4.4). Přestože se D jedinci vyznačovali větší standardizovanou délkou zobáku (Obr. 4.8), tento rozdíl nebyl průkazný po statistické kontrole na velikost vejce. Z toho důvodu nejsou graficky prezentované rozdíly v predikcích MAM pro D a CH mláďata po ošetření na velikost vejce.

**Tab. 4.4:** Odhad parametrů vysvětlovaných proměnných zahrnutých v MAM pro standardizovanou délku zobáku (délka zobáku/délka tarzu) mláďat. Estimate – odhad koeficientů, SE – střední chyba průměru, df – efektivní počet stupňů volnosti odhadnutý pomocí balíčku lmerTest, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	Estimate	SE	df	t	P
(Intercept)	0.710	0.007	7.349	102.838	< 0.001
Objem vejce	-0.002	0.001	21.637	-3.073	0.006
Věk (lineár.)	0.146	0.005	8.003	27.022	< 0.001
Věk (kvadr.)	-0.035	0.004	10.688	-8.413	< 0.001



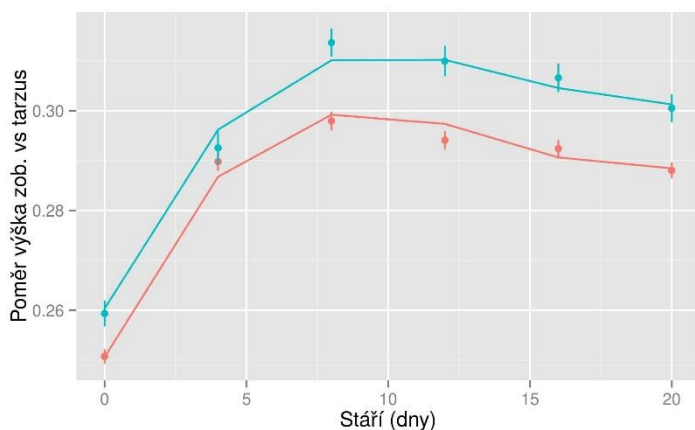
**Obr. 4.8:** Graf pozorovaných a predikovaných hodnot standardizované délky zobáku (poměr délky zobáku ku délce tarzu) pro jednotlivá měření v závislosti na původu. Body grafu odpovídají průměrným hodnotám pro danou skupinu během daného měření, chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru pozorovaných hodnot. Růstové křivky udávají predikce MAM pro CH (červená) a D (modrá) jedince, tj. rozdíl těchto křivek je dán jak samotným efektem původu, tak i efektem velikosti vejce.

Pro standardizovanou výšku zobáku (výška zobáku ku délce tarzu) jedince byl signifikantní samotný efekt původu, avšak ne jeho interakce s věkem (Příloha 5, MAM viz Tab. 4.5). Standardizovaná výška zobáku byla po celou dobu větší u D mláďat, tvar růstových křivek se však mezi D a CH populací nelišila (Obr. 4.9, Obr. 4.10). Na základě predikcí MAM

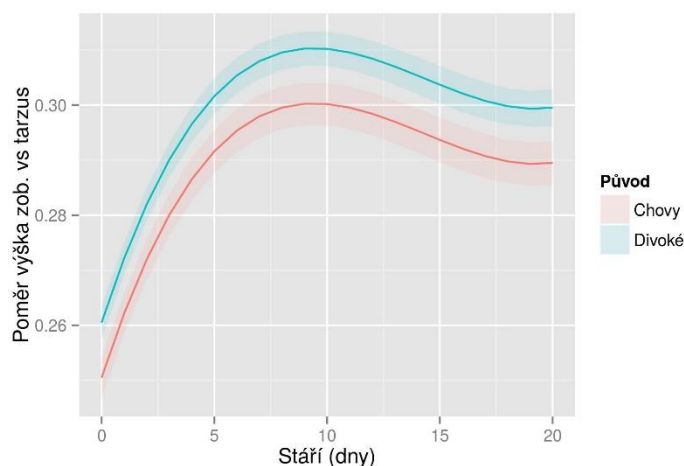
je rozdíl patrný po celou dobu pokusu (Obr. 4.10). Efekt velikosti vejce a pohlaví i jeho interakce s ostatními proměnnými byly nesignifikantní (Příloha 5).

**Tab. 4.5:** Odhad parametrů vysvětlovaných proměnných zahrnutých v MAM pro standardizovanou výšku zobáku (výška zobáku/délka tarzu) mláďat. Estimate – odhad koeficientů, SE – střední chyba průměru, df – efektivní počet stupňů volnosti odhadnutý pomocí balíčku lmerTest, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	Estimate	SE	df	t	P
(Intercept)	0.286	0.001	66.570	205.644	< 0.001
Věk (lineár.)	0.025	0.001	66.070	17.634	< 0.001
Věk (kvadr.)	-0.030	0.001	156.800	-26.444	< 0.001
Věk (kubic.)	0.012	0.001	80.860	10.063	< 0.001
Původ (Chovy vs Divoké)	0.010	0.002	64.410	4.558	< 0.001



**Obr. 4.9:** Graf pozorovaných a predikovaných hodnot standardizované výšky zobáku (poměr výšky zobáku ku délce tarzu) pro jednotlivá měření v závislosti na původu. Body grafu odpovídají průměrným hodnotám pro danou skupinu během daného měření, chybové úsečky znázorňují střední chybu průměru pozorovaných hodnot. Růstové křivky udávají predikce MAM pro CH (červená) a D (modrá) jedince.



**Obr. 4.10:** Graf růstové křivky standardizované výšky zobáku (poměr výšky zobáku ku délce tarzu) v závislosti na věku a původu sestrojené na základě predikcí MAM. Barevně vyznačené 95% konfidenční intervaly.

Vzhledem k silné korelaci mezi plochou plováku a délkou 3. prstu (Pearsonův korelační koeficient:  $r = 0.90$ ,  $P < 0.001$ ) byla dále analyzována pouze plocha plováku. V modelu pro plochu plováku standardizovanou na délku tarzu byl signifikantní proměnnou pouze objem vejce (MAM – Objem vejce: Sklon ( $\pm$  SE) =  $0.250 \pm 3.68E-07$ ,  $t = 2.615$ ,  $P = 0.011$ ). Při kontrole na velikost jedince (tarzus) je tak variabilita ve velikosti plochy plováku dána odlišnou počáteční velikostí mláďat.

Získaná data byla využita také pro srovnání morfologických parametrů kachňat z chovů v závislosti na chovném zařízení, ze kterého pocházela. Srovnání morfologických parametrů vajec a kachňat (měření 20. den stáří) mezi jedinci z farmy MS Stráže Lnáře (CH – STRAZ;  $n = 22$ ) a Klatovského rybářství (CH – KLAT,  $n = 18$ ) pomocí t-testu neukázalo signifikantní rozdíl v žádném z testovaných parametrů (viz Tab. 4.6). Jedinci z CH – STRAZ oproti CH – KLAT dosahovali nižších rozměrů ve většině proměnných. Pozorované rozdíly však byly ve všech případech daleko od hranice signifikance.

**Tab. 4.6:** Porovnání morfologických parametrů vajec a jedinců (stáří 20 dní) z chovů v závislosti na chovném zařízení (CH – STRAZ vs CH – KLAT) pomocí t-testu a jejich průměrné hodnoty v závislosti na původu. SE – střední chyba průměru. df – efektivní počet stupňů volnosti, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	Průměr (CH-STRAZ) $\pm$ SE	Průměr (CH-KLAT) $\pm$ SE	t	df	P
Objem vejce (cm <sup>3</sup> )	114.65 $\pm$ 1.99	119.72 $\pm$ 2.19	-1.715	36.505	0.095
Tvarový index (%)	72.68 $\pm$ 0.57	73.07 $\pm$ 0.74	-0.417	33.682	0.679
Hmotnost (g)	317.35 $\pm$ 9.52	326.97 $\pm$ 12.49	-0.612	33.359	0.545
Tarzus (mm)	45.99 $\pm$ 0.33	46.89 $\pm$ 0.45	-1.588	32.627	0.122
Délka hlavy (mm)	39.49 $\pm$ 0.29	39.36 $\pm$ 0.32	0.302	36.557	0.764
Délka zobáku (mm)	34.99 $\pm$ 0.34	35.42 $\pm$ 0.43	-0.797	34.107	0.431
Šířka zobáku (mm)	17.39 $\pm$ 0.13	13.49 $\pm$ 0.15	-1.124	27.88	0.27
Výška zobáku (mm)	13.25 $\pm$ 0.13	17.68 $\pm$ 0.22	-1.201	36.447	0.238
Plovák (cm <sup>2</sup> )	14.50 $\pm$ 0.27	13.96 $\pm$ 0.34	1.309	33.933	0.199

### 4.3 Hematologické parametry a aktivita komplementu

Průměry zjištěných hodnot pro jednotlivé proměnné v jednotlivých odběrech v závislosti na původu jsou uvedeny v Příloze 14. Na základě 20 vzorků byla pro měření diferenciálního počtu leukocytů spočítána opakovatelnost (repeatabilita) pro zjištění jeho konzistence (Lessells & Boag 1987; Tab. 4.7). Nižší repeatabilita u bazofilů, monocytů a eosinofilů byla zřejmě způsobena jejich nízkou početností.

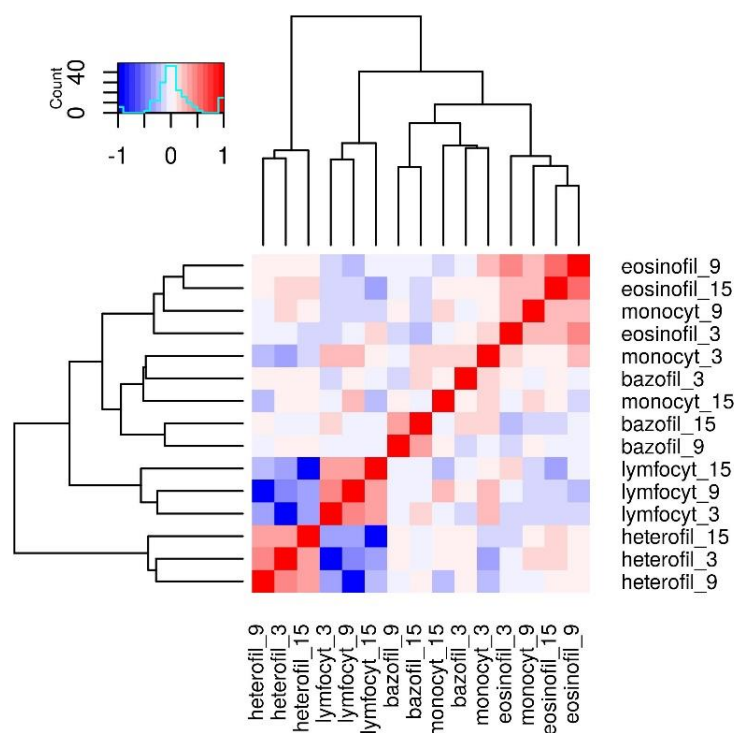
**Tab. 4.7:** Opakovatelnost měření diferenciálního počtu leukocytů,  $n = 20$ ,  $r$  – vnitrotřídní korelační koeficient,  $P$  – dosažená hladina významnosti. Průkazné vztahy jsou vyznačeny tučně.

Typ leukocytů	$r$	$P$
Diferenciální počet lymfocytů (%)	0.93	<b>&lt; 0.001</b>
Diferenciální počet heterofilů (%)	0.90	<b>&lt; 0.001</b>
Diferenciální počet bazofilů (%)	0.55	0.122
Diferenciální počet eosinofilů (%)	0.74	<b>0.006</b>
Diferenciální počet monocytů (%)	0.66	<b>0.030</b>

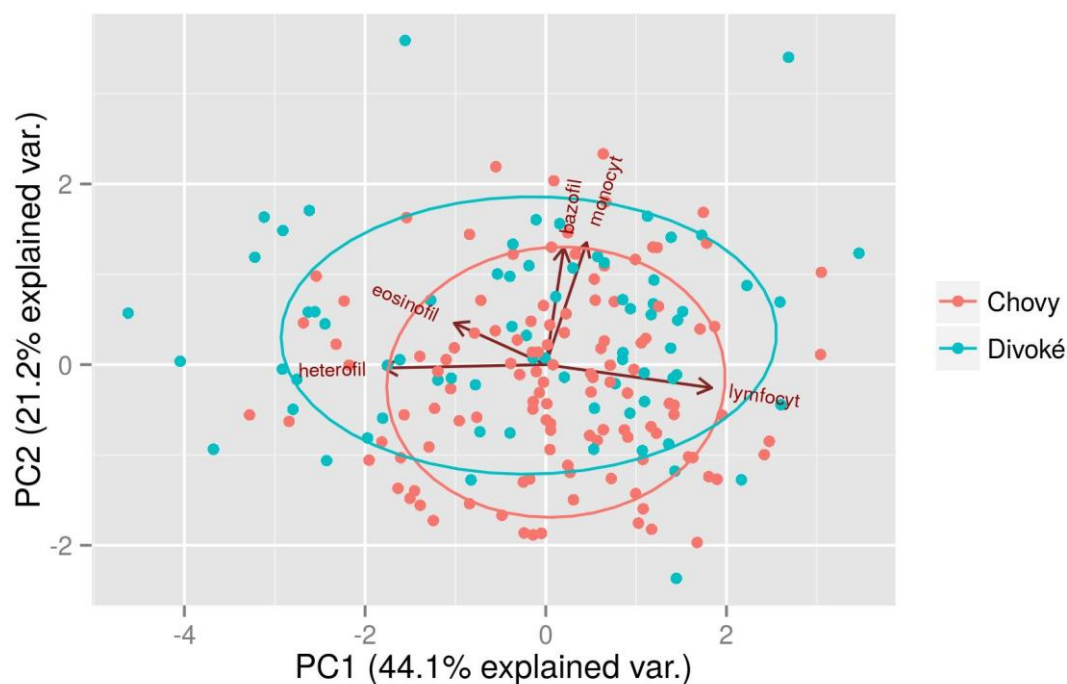
Vzhledem k vysoké negativní korelaci mezi diferenciálním počtem lymfocytů a heterofilů a pozitivní korelaci diferenciálního počtu eosinofilů a monocytů (Obr. 4.11) byla pro diferenciální počet jednotlivých typů leukocytů ze všech odběrů provedena PCA. První hlavní komponenta (PC1) vysvětluje 44.1 % variability a nejvíce s ní pozitivně koreluje zastoupení lymfocytů a negativně zastoupení heterofilů. Tato osa je proto úzce korelovaná s hrubým poměrem H/L, který tak byl použit v následujících analýzách. PC2 vysvětluje 21.2 % variability a nejvíce s ní pozitivně koreluje diferenciální počet bazofilů a monocytů (Tab. 4.8, Obr. 4.12).

**Tab. 4.8:** Korelace diferenciálních počtů leukocytů s hlavními komponentami (PC) – přehled faktorových zátěží („factor loadings“) pro první dvě komponenty analýzy hlavních komponent (PCA). Červeně vyznačeny hodnoty nad  $|0.5|$ , tj. nejvíce korelované proměnné s osami PCA.

Proměnná	PC1	PC2
Diferenciální počet lymfocytů (%)	<b>0.655</b>	-0.132
Diferenciální počet heterofilů (%)	<b>-0.64</b>	-0.02
Diferenciální počet bazofilů (%)	0.071	<b>0.666</b>
Diferenciální počet eosinofilů (%)	-0.361	0.236
Diferenciální počet monocytů (%)	0.161	<b>0.695</b>

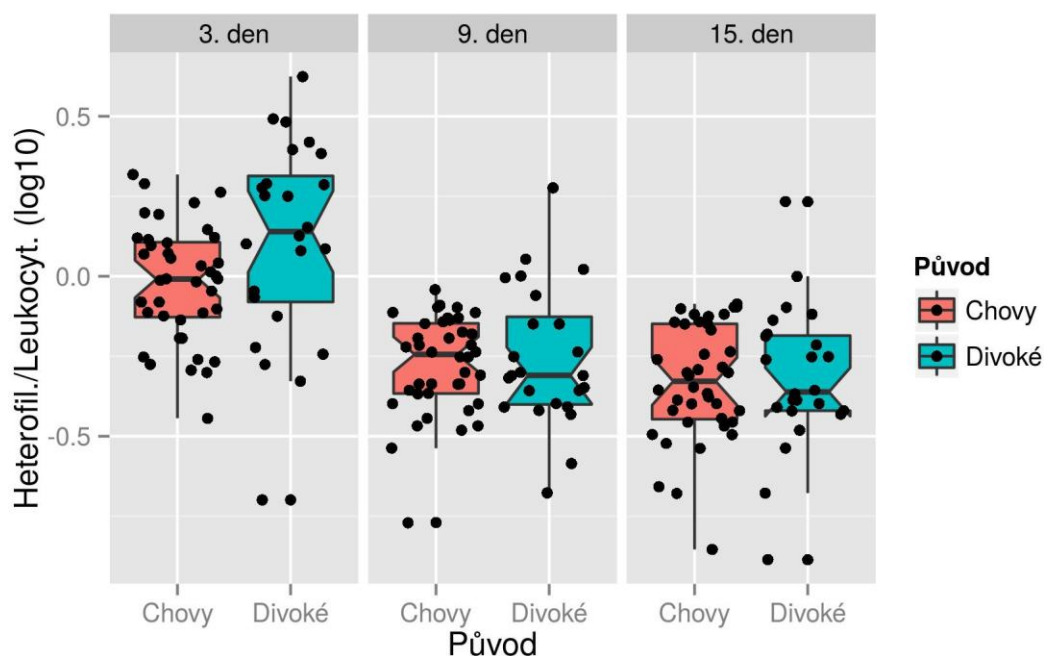


**Obr. 4.11:** Vizualizace matice Spearmanových korelačních koeficientů pro vzájemné korelace diferenciálního počtu jednotlivých typů leukocytů pro všechny věkové kategorie pomocí tzv. „heatmap“, vytvořené na základě hierarchického klastrování korelační matice. V levém horním rohu histogram četností hodnot korelačního koeficientu.



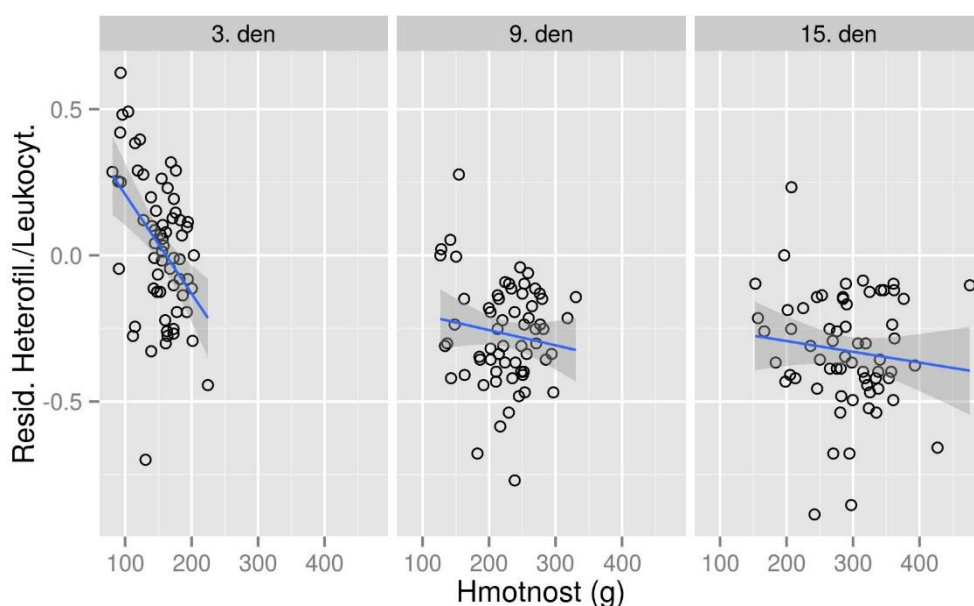
**Obr. 4.12:** Graf projekce prvních dvou hlavních komponent PCA pro diferenciální počty jednotlivých typů leukocytů ze všech měření v závislosti na původu. PC1, resp. PC2 vysvětlují 44.1 %, resp. 21.2 % variability

Na poměr H/L neměl původ ani jeho interakce s dalšími proměnnými signifikantní efekt (viz Příloha 6). Signifikantními proměnnými byly pouze pohlaví ( $P = 0.032$ ), věk ( $P < 0.001$ ) a interakce hmotnosti a stáří ( $P < 0.001$ ; viz Tab. 4.9). Vyšším poměrem se vyznačovali samci. Mezi 3. a 9. dnem věku došlo u D i CH jedinců ke snížení H/L (t-test:  $t = 7.714$ ,  $df = 113.086$ ,  $P < 0.001$ ), mezi 9. a 15. dnem již nebyl rozdíl výrazný (t-test:  $t = 1.753$ ,  $df = 122.81$ ,  $P = 0.082$ ; Obr. 4.13). Dále byla signifikantní dvojná interakce mezi věkem a hmotností (Obr. 4.14). Pro vyjasnění tohoto komplexního vztahu byly zkonstruované samostatné modely pro data z jednotlivých věkových kategorií. Pro tyto separátní modely byl efekt hmotnosti signifikantní pouze ve věku 3. dní, kdy byla mezi hmotností a poměrem H/L pozorována výrazná negativní korelace (Sklon ( $\pm$  SE) =  $-0.004 \pm 0.001$ ,  $\chi^2 = 13.493$ ,  $P < 0.001$ ). Naproti tomu 9. a 15. den věku byl tento trend nesignifikantní (9. den: Sklon ( $\pm$  SE) =  $-0.0003 \pm 0.001$ ,  $\chi^2 = 0.296$ ,  $P = 0.586$  a 15. den: Sklon ( $\pm$  SE) =  $-0.0003 \pm 0.0004$ ,  $\chi^2 = 0.8094$ ,  $P = 0.368$ ). V případě, že se nebral v úvahu vliv dalších kovariát, byl poměr H/L ve věku 3 dní lehce zvýšený u D mláďat (Obr. 4.13), tento rozdíl byl však na hranici signifikance (t-test:  $t = 1.8919$ ,  $df = 32.763$ ,  $P = 0.067$ ).



**Obr. 4.13:** Krabicové grafy pro dekadický logaritmus poměru H/L v závislosti na původu a věku. Zářezy jsou znázorněny přibližné odhady 95% konfidenčních intervalů.





**Obr. 4.14:** Graf částečných residuálů poměru H/L v závislosti na hmotnosti a věku mlád'at. Sklon vztahu pro jednotlivé měření vyznačen přímkou s přibližnými 95% konfidenčními intervaly.

**Tab. 4.9:** Odhad parametrů vysvětlovaných proměnných zahrnutých v MAM pro poměr H/L. Estimate – odhad koeficientů, SE – střední chyba průměru, df – efektivní počet stupňů volnosti odhadnutý pomocí balíčku lmerTest, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

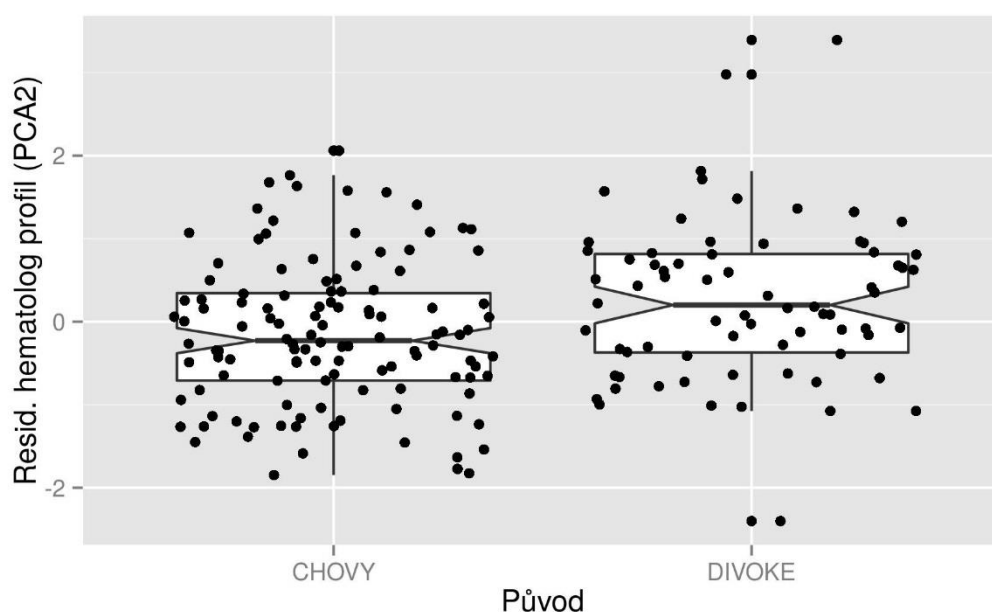
Proměnná	Estimate	SE	df	t	P
(Intercept)	0.528	0.126	147.083	4.196	< 0.001
Hmotnost	-0.003	0.001	151.819	-4.092	< 0.001
Pohlaví (F vs M)	0.063	0.030	51.301	2.135	0.038
Věk (3. den vs 9. den)	-0.729	0.138	125.186	-5.294	< 0.001
Věk (3. den vs 15. den)	-0.796	0.136	126.801	-5.866	< 0.001
Hmotnost × Věk (3. den vs 9. den)	0.003	0.001	140.475	3.886	< 0.001
Hmotnost × Věk (3. den vs 9. den)	0.003	0.001	165.497	4.140	< 0.001

Na PC2 vyjadřující zastoupení ostatních typů leukocytů měl původ mlád'at signifikantní vliv ( $P < 0.001$ ). Vyššími skóry se vyznačovali D jedinci (Obr. 4.15). Kromě původu byly signifikantní také negativní závislost s reziduální velikostí tarzu ( $P = 0.005$ ) a efekt pohlaví ( $P = 0.021$ ), přičemž větší skóry vykazovali samci (MAM viz Tab. 4.10). Žádná z testovaných interakcí nebyla signifikantní (Příloha 7).



**Tab. 4.10:** Odhad parametrů vysvětlovaných proměnných zahrnutých v MAM pro PC2 (vyjadřující hematologický profil leukocytů – pozitivní korelace s diferenciálním počtem eozinofilů, monocytů, bazofilů). Estimate – odhad koeficientů, SE – střední chyba průměru, df – efektivní počet stupňů volnosti odhadnutý pomocí balíčku lmerTest, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	Estimate	SE	df	t	P
(Intercept)	-0.415	0.134	60.869	-3.095	0.003
Residuální tarzus	-8.647	3.074	79.246	-2.813	0.006
Pohlaví (F vs M)	0.353	0.155	61.453	2.277	0.026
Původ (Chovy vs Divoké)	0.546	0.151	60.242	3.606	0.001



**Obr. 4.15:** Krabicový graf částečných residuů pro PC2 skóry v závislosti na původu mláďat. PC2 skóry pozitivně korelují s diferenciálním počtem monocytů, bazofilů, eozinofilů. Zářezy znázorňují přibližný odhad 95% konfidenčního intervalu.

Opakovatelnost stanovování poměru imaturních erytrocytů vypočítaná na základě 15 vzorků byla vysoká ( $r = 0.97$ ,  $P < 0.001$ ). Rozmezí zastoupení imaturních erytrocytů bylo 1.15 – 35.24 %. Pro poměr imaturních erytrocytů vyšla jako signifikantní trojná interakce mezi původem, hmotností a věkem interakce mezi residuálním tarzem a věkem a interakce mezi pohlavím a věkem (Příloha 8, MAM viz Tab. 4.11).

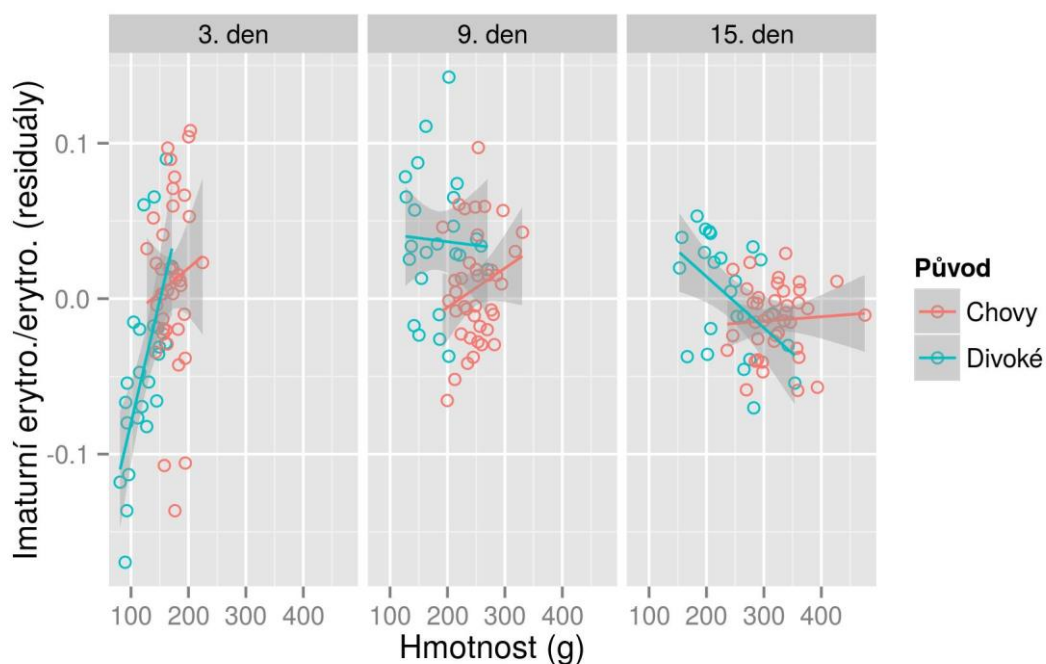
Samostatný model pro CH mláďata neprokázal, že by se pozitivní závislost mezi hmotností a poměrem imaturních erytrocytů měnila mezi jednotlivými odběry (Interakce mezi hmotností a věkem:  $\chi^2 = 0.984$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0.611$ ). Zatímco v případě D mláďat nebyl vztah

mezi hmotností a zastoupením imaturních erytrocytů mezi jednotlivými odběry konstantní (Interakce mezi hmotností a věkem:  $\chi^2 = 25.366$ ,  $df = 2$ ,  $P < 0.001$ ). Zatímco ve věku 3 dní byla pro divoká mláďata pozorována pozitivní korelace s hmotností, ve věku 9. dní nebyl zaznamenán žádný vztah a v posledním odběru ve věku 15. dní byl vztah negativní (Obr. 4.16). Hmotnosti zahrnuté do tohoto modelu pro jednotlivé věkové kategorie odběrů korelovaly s jejich přírůstky mezi jednotlivými odběry (Pearsonův korelační koeficient:  $r_1 = 0.94$ ,  $r_2 = 0.90$ ,  $r_3 = 0.85$ ).

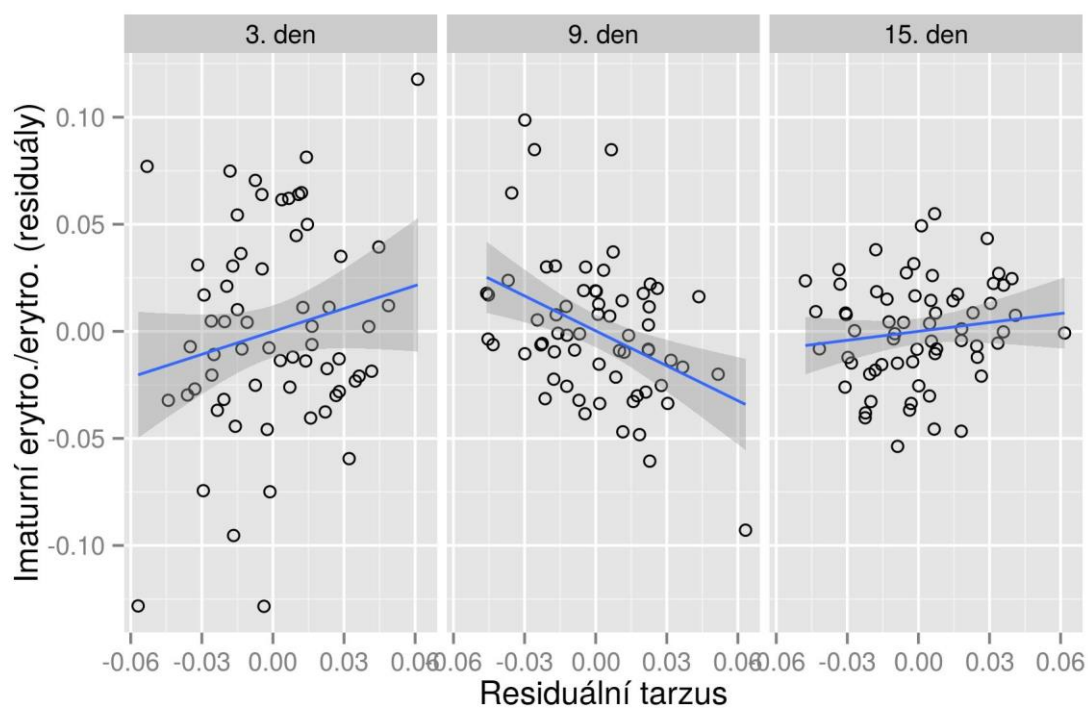
Poměr imaturních erytrocytů bez ohledu na původ negativně koreloval s residuálním tarzem ve věku 9. dní (Sklon ( $\pm$  SE) =  $-0.364 \pm 0.173$ ,  $\chi^2 = 4.873$ ,  $P = 0.027$ ), zatímco ve věku 3 a 15 dní byla zaznamenána opačná, avšak nesignifikantní tendence (3. den: Sklon ( $\pm$  SE) =  $0.333 \pm 0.260$ ,  $\chi^2 = 1.972$ ,  $P = 0.160$  a 15. den: Sklon ( $\pm$  SE) =  $0.184 \pm 0.144$ ,  $\chi^2 = 2.032$ ,  $P = 0.154$ ; Obr. 4.17).

**Tab. 4.11:** Odhad parametrů vysvětlovaných proměnných zahrnutých v MAM pro poměr imaturních erytrocytů ku všem erytrocytům. Estimate – odhad koeficientů, SE – střední chyba průměru, df – efektivní počet stupňů volnosti odhadnutý pomocí balíčku lmerTest, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	Estimate	SE	df	t	P
(Intercept)	0.267	0.079	171.31	3.383	0.001
Residuální tarzus	0.658	0.291	171.799	2.26	0.025
Hmotnost	0.001	0	171.336	1.188	0.236
Pohlaví (F vs M)	0.035	0.016	170.561	2.245	0.026
Původ (Chovy vs Divoké)	-0.322	0.097	171.154	-3.312	0.001
Věk (3. den vs 9. den)	0.097	0.106	118.615	0.913	0.363
Věk (3. den vs 15. den)	0.051	0.098	124.558	0.522	0.603
Residuální tarzus × Věk (3. den vs 9. den)	-1.396	0.414	122.862	-3.374	0.001
Residuální tarzus × Věk (3. den vs 15. den)	-0.253	0.418	129.163	-0.604	0.547
Hmotnost × Věk (3. den vs 9. den)	0	0.001	125.788	-0.52	0.604
Hmotnost × Věk (3. den vs 15. den)	0	0	145.406	-0.997	0.32
Pohlaví (F vs M) × Věk (3. den vs 9. den)	-0.042	0.021	115.47	-1.967	0.052
Pohlaví (F vs M) × Věk (3. den vs 15. den)	-0.05	0.021	115.169	-2.329	0.022
Původ (Chovy vs Divoké) × Věk (3. den vs 9. den)	0.471	0.129	117.582	3.657	< 0.001
Původ (Chovy vs Divoké) × Věk (3. den vs 15. den)	0.455	0.123	122.089	3.695	< 0.001
Hmotnost × Původ (Chovy vs Divoké)	0.002	0.001	171.117	3.375	0.001
Hmotnost × Původ (Chovy vs Divoké) × Věk (3. den vs 9. den)	-0.003	0.001	125.664	-3.636	< 0.001
Hmotnost × Původ (Chovy vs Divoké) × Věk (3. den vs 15. den)	-0.003	0.001	141.62	-3.793	< 0.001



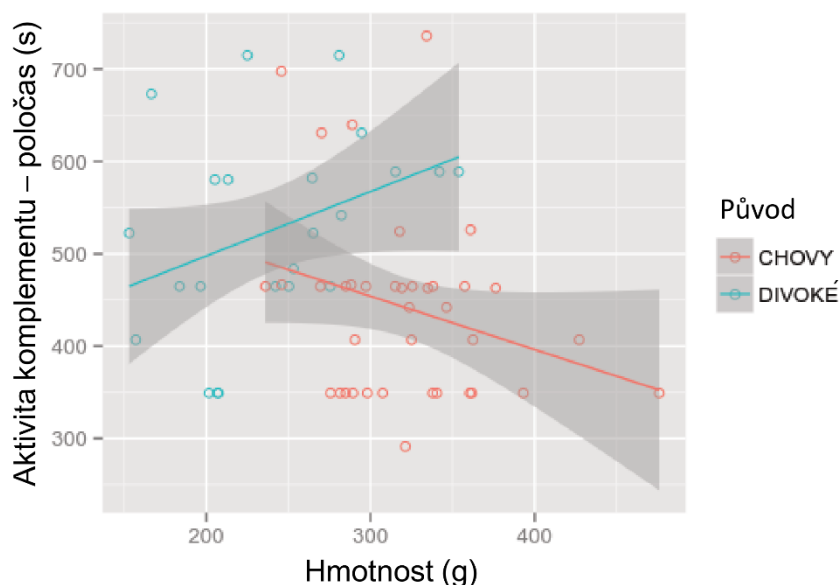
**Obr. 4.16:** Graf částečných residuálů pro poměr imaturních erytrocytů ku celkovému počtu erytrocytů v závislosti na původu a věku mláďat. Sklon vztahů pro jednotlivé měření vyznačen přímkou s přibližnými 95% konfidenčními intervaly.



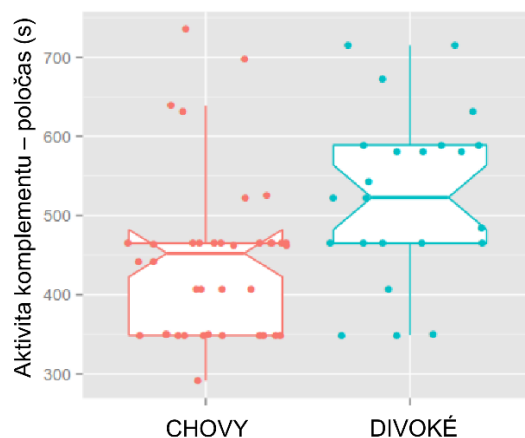
**Obr. 4.17:** Graf závislosti částečných residuálů pro poměr imaturních erytrocytů ku celkovému počtu erytrocytů v závislosti na residuální délce tarzu a věku mláďat. Sklon vztahu pro jednotlivé měření vyznačen přímkou s přibližnými 95% konfidenčními intervaly.

Mezi jednotlivými odběry se samotný poměr imaturních erytrocytů u CH mláďat měnil ( $\chi^2 = 45.902$ ,  $df = 2$ ,  $P < 0.001$ ). Zatímco průměrný ( $\pm$  SE) poměr imaturních erytrocytů ve věku tří dní byl  $0.143 \pm 0.009$ , ve věku 9 dní se mírně zvýšil na  $0.172 \pm 0.004$  ( $P = 0.069$ ) a ve věku 15 dní naopak signifikantně poklesl oproti prvnímu měření na  $0.105 \pm 0.003$  ( $P = 0.002$ ). Signifikantní rozdíly byly pozorované i u D mláďat ( $\chi^2 = 43.215$ ,  $df = 2$ ,  $P < 0.001$ ). Ve věku 9 dní byl poměr erytrocytů signifikantně vyšší než ve třech dnech ( $0.203 \pm 0.012$  vs  $0.094 \pm 0.012$ ,  $P < 0.001$ ), rozdíl mezi prvním a posledním odběrem však již nebyl průkazný ( $0.121 \pm 0.006$ ,  $P = 0.126$ ).

Bakteriolytická aktivita komplementu byla analyzována u 23 jedinců z D populace a 38 jedinců z CH populace. U tří jedinců se nepodařilo získat dostačující vzorek plazmy. Jako průkazná se ukázala pouze interakce původu kachňat a hmotnosti ( $P = 0.012$ ), kde aktivita komplementu u D kachňat s rostoucí hmotností klesala a u CH kachňat se s rostoucí hmotností naopak zvyšovala (Obr. 4.18, MAM viz Tab. 4.12). Po odstranění efektu interakce byla aktivita komplementu vyšší u CH než u D kachňat ( $P = 0.017$ ; Obr. 4.19). Je nutné poznamenat, že z výše uvedených grafů se tyto vztahy mohou jevit jako opačné, aktivita komplementu je zde ovšem vyjádřena jako čas potřebný k usmrcení poloviny bakterií v jamce po přidání vzorku plasmy, tedy čím vyšší čas, tím je komplement méně účinný.



**Obr. 4.18:** Graf závislosti celkové aktivity komplementu na hmotnosti (20. den stáří) a původu kachňat. Sklony vztahu vyznačeny přímkou s přibližnými 95% konfidenčními intervaly. Účinnost komplementu je vyjádřena jako čas potřebný k usmrcení poloviny bakterií v jamce po přidání vzorku plasmy



**Obr. 4.19:** Krabicový graf závislosti celkové aktivity komplementu na původu kachňat. Účinnost komplementu je vyjádřena jako čas potřebný k usmrcení poloviny bakterií v jamce po přidání vzorku plasmu. Zářezy znázorňují přibližný odhad 95% konfidenčního intervalu

**Tab. 4.12:** Odhad parametrů vysvětlovaných proměnných zahrnutých v MAM pro celkovou bakteriolytickou aktivitu komplementu. Estimate – odhad koeficientů, SE – střední chyba průměru, df – efektivní počet stupňů volnosti odhadnutý pomocí balíčku lmerTest, t – hodnota t statistiky, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	Estimate	SE	t	P
(Intercept)	626.889	108.951	5.754	<b>&lt; 0.001</b>
Hmotnost	-0.577	0.335	-1.719	0.091
PůvodDIVOKÉ	-268.374	143.829	-1.866	0.067
Hmotnost:PůvodDIVOKÉ	1.272	0.507	2.508	<b>0.015</b>

## 4.4 Open field test

Celkem bylo vyhodnoceno chování 63 jedinců v 1. OFT a 62 jedinců v 2. OFT. Jeden jedinec z 1. měření a dva jedinci z 2. měření byli vyřazeni z důvodu technické závady při natáčení videozáznamu. Průměry pozorovaných hodnot pro jednotlivé proměnné v prvním i druhém měření v závislosti na původu jsou uvedeny v Příloze 15.

Do analýzy chování v OFT nebyla zahrnuta proměnná latence vokalizace, jelikož tento parametr nabýval kromě dvou výjimek hodnoty 0, tj. v čase zahájení experimentu již převážná většina kachňat pískala. Reakcí na příchod experimentátora byla ve všech analyzovaných případech (n = 105) přítomnost kontaktního hlasu. Tato proměnná proto nebyla podrobena dalším analýzám, přesto je toto zjištění cenným poznatkem.

Na základě Spearmanova koeficientu korelace nezávisel žádný prvek chování na pořadí, ve kterém byla kachňata v rámci jedné klece testována (viz Příloha 16). Proměnná pořadí, v němž byla mláďata testována, již proto do dalších analýz nebyla zahrnuta.

Hodnoty Spearmanova koeficientu korelace (Tab. 4.13a) ukázaly, že projevy většiny měřených parametrů mezi 2 měřeními téhož experimentu byly opakovatelné. Statisticky významné hodnoty  $r_s$  se pohybovaly v rozmezí 0.41 – 0.67. Test korelace byl nesignifikantní pro latenci a četnost klování a defekace a latenci chůze. Nejvyšší korelační koeficienty měly frekvence výskoků ( $r_s = 0.67$ , P) a celková doba vokalizace ( $r_s = 0.67$ ). Vysokými hodnotami se vyznačovaly též parametry spojené s lokomoční aktivitou – celková doba chůze ( $r_s = 0.59$ ) a celková délka trajektorie ( $r_s = 0.59$ ).

Výsledky párového Wilcoxonova testu (viz Tab. 4.13b) ukázaly, že v druhém testu došlo oproti prvnímu testu ke zkrácení doby strávené chůzí ( $P < 0.001$ ), celkové délky trajektorie ( $P = 0.001$ ), latence čištění ( $P = 0.002$ ) a naopak prodloužení doby strávené sezením ( $P = 0.026$ ). U ostatních prvků chování nebyl případný rozdíl statisticky významný.

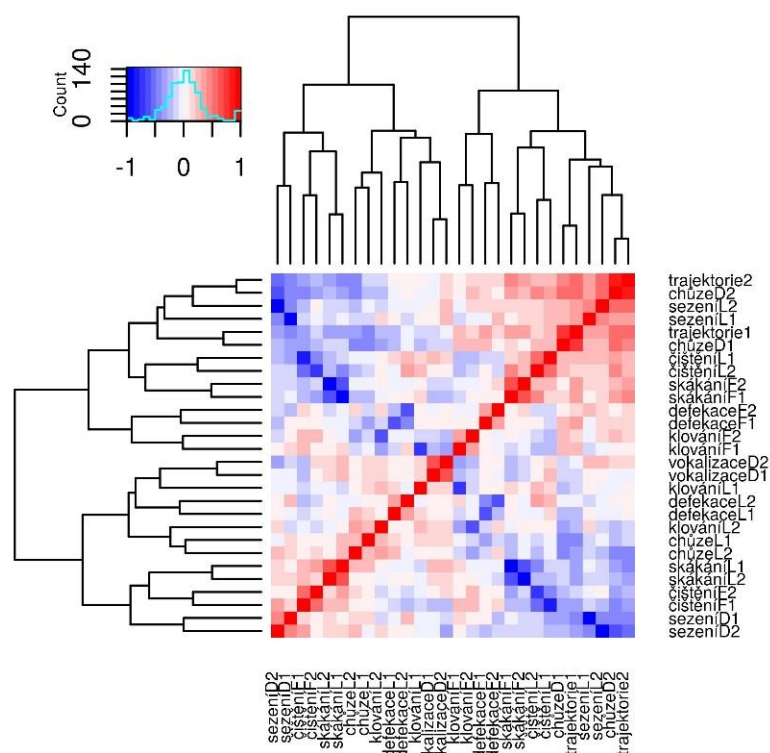
**Tab. 4.13:** a) Opakovatelnost parametrů chování mezi prvním a druhým měřením v OFT. b) Porovnání jednotlivých prvků chování mezi prvním a druhým měřením v OFT pomocí Wilcoxonova párového testu.  $n = 62$ ,  $r_s$  – Spearmanův koeficient korelace,  $D$  – doba trvání,  $L$  – doba latence,  $F$  – četnost daného prvku chování,  $W$  – odhad rozdílů mediánu (záporné hodnoty indikují pokles mezi 1. a 2. měřením),  $P$  – dosažená hladina významnosti. Průkazné vztahy jsou vyznačeny tučně.

Proměnná	a) Opakovatelnost proměnných		b) Rozdíly mezi OFT1 a OFT2	
	$r_s$	P	W	P
Chůze – D	0.586	<b>&lt; 0.001</b>	-28.800	<b>&lt; 0.001</b>
Chůze – L	0.296	0.333	-0.050	0.975
Vokalizace – D	0.668	<b>&lt; 0.001</b>	-7.800	0.145
Sezení – D	0.443	<b>0.005</b>	15.231	<b>0.026</b>
Sezení – L	0.409	<b>0.017</b>	-75.026	0.079
Defekace – F	0.341	0.114	3.3E-05	0.594
Defekace – L	0.311	0.239	-11.400	0.303
Čištění – F	0.525	<b>&lt; 0.001</b>	0.500	0.525
Čištění – L	0.53	<b>&lt; 0.001</b>	-36.700	<b>0.002</b>
Klování – F	0.305	0.274	-1.000	0.172
Klování – L	0.205	1	33.929	0.073
Skákání – F	0.668	<b>&lt; 0.001</b>	-1.500	0.326
Skákání – L	0.677	<b>&lt; 0.001</b>	-46.700	0.224
Délka trajektorie	0.598	<b>&lt; 0.001</b>	-594.703	<b>0.001</b>

Hierarchické klastrování korelační matice pro jednotlivé prvky chování pro první i druhé měření (tzv. „heatmap“; Obr. 4.20) ukázalo kromě silné pozitivní korelace jednotlivých prvků chování mezi OFT 1 a OFT 2 (viz také Tab. 4.13a) také dva hlavní klastry, v jejichž rámci bylo chování spíše pozitivně korelované, ale mezi nimi spíše negativně, vzájemné vztahy mezi jednotlivými prvky chování tak byly posléze zjednodušeny pomocí PCA. Pro předběžný vhled do kontrastu v zastoupení jednotlivých prvků chování mezi D a CH jedinci byl použit Mann-Whitney U test (Tab. 4.14). Původ kachňat měl v obou měřeních vliv na celkovou dobu chůze ( $P_1 = 0.003$ ,  $P_2 = 0.038$ ) a četnost klovení ( $P_1 = 0.001$ ,  $P_2 = 0.008$ ), přičemž vyššími hodnotami se vykazovala D kachňata. D kachňata se v prvním měření vyznačovala také delší trajektorií ( $P = 0.029$ ), ve druhém již byl tento trend mírně nad hranicí signifikance ( $P = 0.058$ ). V druhém měření se D kachňata vyznačovala také delší latencí defekace ( $P = 0.022$ ) a CH kachňata delší latencí klovení ( $P = 0.047$ ).

**Tab. 4.14:** Závislost jednotlivých parametrů chování v OFT na původu kachňat testovaná pomocí Mann-Whitneyova testu. D – doba trvání, L – doba latence, F – četnost daného prvku chování. W – odhad rozdílů mediánu (pozitivní hodnoty W značí vyšší hodnoty parametrů u D kachňat), P – dosažená hladina významnosti. Statisticky průkazné vztahy jsou vyznačeny tučně.

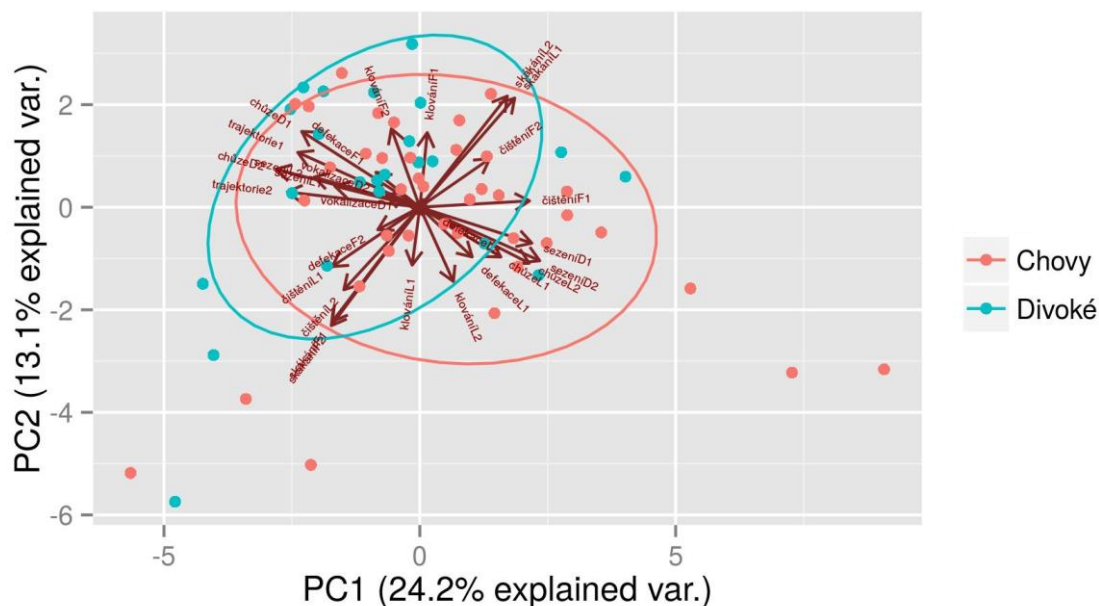
Proměnná	OFT 1		OFT 2	
	W	P	W	P
Chůze - D	40.200	<b>0.003</b>	37.900	<b>0.038</b>
Chůze - L	0.200	0.937	-0.800	0.431
Vokalizace - D	-24.893	0.110	-16.200	0.329
Sezení - D	-4.75E-04	0.729	-2.57E-05	0.101
Sezení - L	5.65E-05	0.971	5.03E-05	0.139
Defekace - F	-6.48E-05	0.284	-1.000	0.062
Defekace - L	5.050	0.772	37.000	<b>0.022</b>
Čištění - F	-1.000	0.341	-1.000	0.458
Čištění - L	22.921	0.304	3.400	0.361
Klovení - F	3.000	<b>0.001</b>	2.000	<b>0.008</b>
Klovení - L	-35.073	0.052	-48.000	<b>0.047</b>
Skákání - F	6.92E-05	0.231	3.21E-06	0.062
Skákání - L	4.47E-05	0.236	-3.20E-06	0.083
Délka trajektorie	702.8	<b>0.029</b>	727.300	0.058



**Obr. 4.20:** Vizualizace matice Spearmanových korelačních koeficientů pro vzájemné korelace jednotlivých prvků chování pozorovaných v prvním i druhém OFT pomocí tzv. „heatmap“, vytvořené na základě hierarchického klastrování korelační matice. V levém horním rohu histogram četností hodnot korelačního koeficientu.

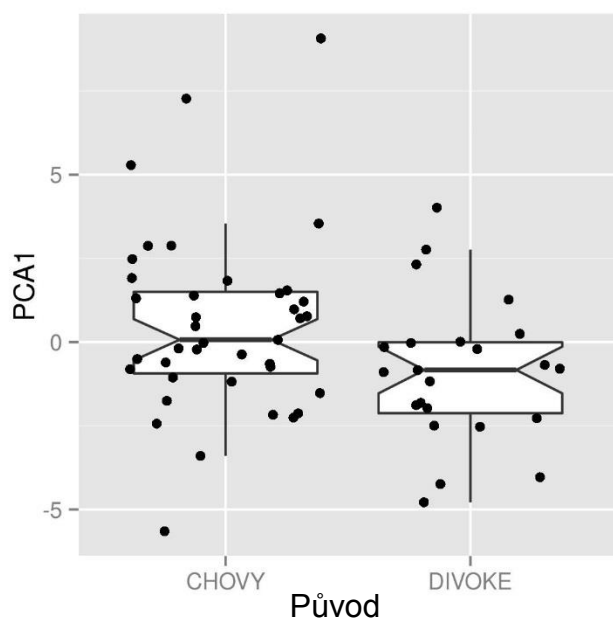
Vzhledem k vysoké opakovatelnosti projevů chování (Tab. 4.13a) byly do analýzy hlavních komponent zahrnuty všechny parametry chování z obou testů (28 proměnných). První hlavní komponenta PC1 vysvětluje 24.2 % variability a rozděluje prvky chování na aktivní a pasivní (viz Obr. 4.21) v souladu s hierarchickým klastrováním korelačních koeficientů (Obr. 4.20). Nejvíce s ní pozitivně koreluje doba chůze a délka trajektorie a negativně doba sezení a latence chůze. Tato komponenta by mohla vyjadřovat úzkostlivost kachně při izolaci a jeho snahu vrátit se ke své skupině. Skákání (četnost a v opačném směru působící latence) je součástí první i druhé hlavní komponenty. PC2 vysvětluje 13.1 % variability a nejvíce s ní koreluje skákání. Ve stejném směru jako četnost skákání s ní koreluje také latence čištění a klovaní, v opačném směru s ní koreluje latence skákání a četnost klovaní. Tato osa by mohla vyjadřovat stresovou reakci – snahu o únik na jedné straně a explorační chování na straně druhé. Jak je ovšem patrné z Tab. 4.15, míra korelace jednotlivých parametrů chování s hlavními komponentami byla poměrně nízká. Body znázorňující jednotlivá zvířata na základě jejich původu mezi osami PC1 a PC2 se shlukují do klastrů, které se však překrývají, vliv původu tak nebyl výrazný (Obr. 21).





**Obr. 4.21:** Graf projekce prvních dvou hlavních komponent PCA pro všechny parametry chování z prvního a druhého měření v OFT v závislosti na původu mláďat. PC1, resp. PC2 vysvětlují 24.2 %, resp. 13.1 % variability.

Původ kachňat měl průkazný vliv na PC1 vyjadřující aktivitu (MAM – Původ: Sklon ( $\pm$  SE) =  $-1.393 \pm 0.666$ ,  $t = 2.093$ ,  $P = 0.041$ ). D kachňata se signifikantně vykazovala nižšími skóry PC1, jsou tedy na ose aktivita – pasivita aktivnější (Obr. 4.22). Efekt původu nebyl



signifikantní pro PC2, po odstranění všech nesignifikantních proměnných zbyl pouze nulový model. U obou těchto komponent tak nebyl signifikantní efekt pohlaví, hmotnosti kachňat ani dvojné interakce (viz Přílohy 10 a 11).

**Obr. 4.22:** Krabicový graf závislosti první komponenty PCA (PC1) vyjadřující osu aktivity – pasivity v závislosti na původu. Zářezy znázorňují přibližný odhad 95% konfidenčního intervalu.

**Tab. 4.15:** Korelace všech parametrů chování v OFT s hlavními komponentami – přehled faktorových zátěží („factor loadings“) pro první dvě komponenty analýzy hlavních komponent. Červeně vyznačeny hodnoty nad  $|0.25|$  včetně, tj. nejvíce korelované parametry s osami PCA. D – doba trvání, L – doba latence, F – četnost daného prvku chování.

Proměnná	PC1	PC2	Proměnná	PC1	PC2
Chůze - D_1	-0.262	0.228	Čištění - F_1	0.243	0.019
Chůze - D_2	-0.319	0.114	Čištění - F_2	0.155	0.146
Chůze - L_1	0.18	-0.15	Čištění - L_1	-0.194	-0.178
Chůze - L_2	0.243	-0.168	Čištění - L_2	-0.169	-0.248
Vokalizace - D_1	-0.021	0.002	Klování - F_1	0.017	0.225
Vokalizace - D_2	-0.075	0.037	Klování - F_2	-0.063	0.236
Sezení - D_1	0.249	-0.108	Klování - L_1	-0.017	-0.174
Sezení - D_2	0.266	-0.161	Klování - L_2	0.074	-0.223
Sezení - L_1	-0.189	0.063	Skákání - F_1	-0.194	-0.344
Sezení - L_2	-0.235	0.091	Skákání - F_2	-0.196	-0.356
Defekace - F_1	-0.097	0.105	Skákání - L_1	0.211	0.328
Defekace - F_2	-0.093	-0.068	Skákání - L_2	0.194	0.334
Defekace - L_1	0.116	-0.149	Délka trajektorie_1	-0.271	0.165
Defekace - L_2	0.024	-0.017	Délka trajektorie_2	-0.294	0.046

## 5 Diskuse

### 5.1 Morfologické parametry vajec a líhnivost mládřat

Objem vajec pocházejících z intenzivních chovů byl ve srovnání s vejci z volné přírody průkazně větší, přičemž tento rozdíl byl patrný na první pohled (Obr. 3.2b). Větší velikost vajec z chovů nebyla překvapivá vzhledem k tomu, že kachny divoké z krotkých odchovů se vyznačují většími rozměry i hmotnostmi (Figley & VanDruff 1982, Guillemain et al. 2010, Gunnarsson et al. 2011) a mají dostatečný přísun živin, jež jsou pro samici při tvorbě snůšky limitujícím faktorem a mohou mít vliv i na samotnou velikost vejce (Hiom et al. 1991, Pehrsson 1991, Grindstaff et al. 2005). Jako parametr pro velikost vejce jsme použili namísto obvykle používané hmotnosti odhad jeho objemu, jelikož některá vejce z divoké populace byla již mírně nasezelá a objem vejce se na rozdíl od jeho hmotnosti v průběhu inkubace nemění, s hmotností vejce je však silně korelován (Hoyt 1979). Vyšší hmotnost vajec kachny divoké u jedinců z polodivoké linie oproti linii divoké byla zjištěna i v kontrolovaných podmínkách zajetí (Prince et al. 1970, Pehrsson 1991).

Vejce z chovů se kromě větší velikosti vyznačovala také zvýšeným tvarovým indexem, jejich tvar byl tedy oproti vejcům z divoké populace kulatější. U křepelek japonských (*Coturnix coturnix japonica*) byl mezi velikostí vejce a jeho tvarovým indexem zjištěn negativní, tedy opačný vztah (Kul & Seker 2004). Zvětšování vajec by teoreticky mělo spíše vést ke snižování jejich tvarového indexu (tj. prodlužování), jelikož jejich šířka může být omezena průchodností oviduktu (Hicks 1958). Naše data jsou však v rozporu s touto hypotézou, tudíž vyšší index vajec z chovů tak nejspíše nebude dán samotným rozdílem ve velikosti vajec. Dle Havránka (ČMMJ 2009) dochází ke zvyšování indexu vajec u kachny divoké se zvyšujícím se stupněm domestikace, stejný trend byl pozorován také u bažanta obecného. Příčinu tohoto trendu Havránek neudává, nicméně zvyšování tvarového indexu může ovlivňovat např. mechanické vlastnosti vajec – pro rozbití vajec s vyšším tvarovým indexem je zapotřebí více tlaku k jejich rozbití (Altuntaş & Şekeroğlu 2008), může to však být pouhou selekcí na vyšší produkci vajec v zajetí či důsledkem relaxace selekce na optimální tvar z hlediska inkubace.

Líhnivost vajec pocházejících z intenzivních chovů a volné přírody se nelišila. Vystavení vajec vnějším podmínkám prostředí, jehož doba před nastoupením plné inkubace může mít na životaschopnost vajec negativní efekt (Cook et al. 2003, Javůrková et al. 2014) a jež trvalo déle u vajec z volné přírody oproti vejcům z chovů sebraných v den vylíhnutí, tak nemělo na přežívání zárodků vliv. Průměrná líhnivost divokých vajec byla dokonce vyšší než průměrná

líhivost vajec z chovů, tento rozdíl ale nebyl průkazný. Proto je pravděpodobné, že odlišné podmínky na samém počátku ontogeneze tak neměly na životaschopnost vajec využitých pro následnou analýzu fenotypu kachňat vliv.

## 5.2 Růstové parametry mlád'at

V doposud provedených studiích porovnávajících tělesné rozměry kachny divoké u jedinců z chovů a divoké populace byly mnohdy sledovány pouze jejich absolutní hodnoty, v převážné většině případů navíc u jedinců, jež se vyvíjeli v odlišných podmínkách prostředí (např. Byers & Cary 1991, Champagnon et al. 2010, Osborne et al. 2010, Champagnon et al. 2012b, Söderquist et al. 2014). Některé morfometrické znaky jsou spolu ovšem úzce korelované, a tento přístup proto není vhodný ke studiu alometrických rozdílů mezi populacemi. Pro vzhled do variability morfometrie kachňat tak byly námi sledované znaky vypovídající o strukturní velikosti standardizované. Vzhledem k výraznému rozdílu ve velikosti vajec z divoké populace a populace z chovů a jejich silné korelaci s velikostí a především hmotností vylíhnutých mlád'at v této i dalších pracích (Williams 1994, Krist et al. 2011, Koláčková et al. 2015) byly navíc všechny testované rozměry ošetřeny na objem vejce.

Při porovnání pouze naměřených nestandardizovaných hodnot bez ohledu na rozdílnou velikost vajec se většími rozměry vyznačovala kachňata z chovů ve všech sledovaných morfologických parametrech (výjimkou by byla pouze délka zobáku ihned po vylíhnutí, viz Příloha 13). Kachňata z vajec z chovů se vyznačovala oproti kachňatům z vajec z divoké populace větší hmotností i při kontrole na velikost vejce, přičemž po celou dobu pokusu se rozdíl v nárůstu hmotnosti průběžně zvětšoval. Toto zjištění je konzistentní se závěry studie Prince et al. (1970), která jako jedna z mála sledovala hmotnost kachňat z divoké a polodivoké linie v podmínkách zajetí od vylíhnutí do stáří 8 týdnů a následně v dospělosti. Kromě rozdílu v růstu mezi dvěma liniemi byl v tělesné hmotnosti od dvou týdnů věku patrný také pohlavní dimorfismus. Vliv pohlaví na hmotnost v naší práci byl nad hranici significance, což však mohlo být zapříčiněno kratší dobou pokusu (3 týdny). Nicméně je otázkou, do jaké míry může být srovnání mezi liniemi v rámci 40 let staré studie ze Severní Ameriky relevantní pro srovnání se současnými chovy. Vyšší růstové schopnosti kachňat z chovů zmiňuje také Havránek (ČMMJ 2009), neuvádí ovšem, jakým způsobem bylo toto testováno, ani průkaznost a míru tohoto rozdílu. U standardizované délky tarzu dosahovala při ošetření na velikost vejce větších rozměrů po celou dobu pokusu naopak kachňata z divoké populace. Tento rozdíl ovšem nebyl nijak výrazný a v průběhu pokusu se neměnil. Plocha plováku se mezi sledovanými skupinami

nelišila. Vzhledem k poskytování dostatku lehce stravitelné potravy a absenci predátorů jsou v intenzivních chovech zvýhodňováni jedinci, kteří se vyznačují vlastnostmi výhodnými pro chov, jako je rychlý růst a vyšší reprodukční schopnosti (Mignon-Grasteau et al. 2005). Navíc mohl k zvyšování hmotnosti přispět i umělý výběr jedinců, kteří jsou viditelně v dobré kondici, při obměně chovného hejna (Champagnon 2011, Zimmer, osobní komunikace). Omezený životní prostor a pravidelný přísun potravy dále kladou v zajetí minimální tlak na fyzickou aktivitu (Liukkonen-Antilla et al. 2000, Pavlišová 2009), zatímco u divoké populace může být v přirozených podmínkách silnější selekce na větší strukturní velikost tarzu, jelikož pro prekociální mláďata jsou pohybové schopnosti po vylíhnutí zásadní (Anderson & Alisauskas 2001).

Ve dvou recentních studiích (Champagnon et al. 2010, Söderquist et al. 2014), které se zabývaly odlišnostmi v morfologických parametrech zobáku u adultních jedinců a jejich posunem v divoké populaci v důsledku introgrese, se jedinci ze zajetí vyznačovali širším zobákem a zřetelná u nich byla také tendence k větší výšce a kratší délce, jež však nebyla signifikantní (Söderquist et al. 2014). V naší práci byla standardizovaná šířka zobáku větší u mláďat z divoké populace, přičemž až do 12. dne věku se rozdíl v nárůstu postupně zvětšoval. Jedinci z divoké populace se vyznačovali také vyšší standardizovanou výškou zobáku, tento rozdíl však nebyl tolik výrazný jako u šířky zobáku. Tyto rozdíly byly signifikantní, nicméně jejich absolutní hodnoty by byly velmi malé. Původ kachňat naopak neměl průkazný vliv na růst standardizované délky zobáku. Po vylíhnutí se však svému finálnímu rozměru blíží více šířka zobáku než délka zobáku (Gille & Salomon 1999), je tak možné, že postupem času by k diferenciaci v délce zobáku došlo. Tyto závěry jsou na první pohled v nesouladu s výše uvedenými studiemi, ovšem je důležité zdůraznit, že v těchto studiích byly porovnávány absolutní rozměry u adultních jedinců z populací, k jejichž individuálnímu vývoji došlo v odlišném prostředí. Na hustotu lamel i rozměry zobáku měl navíc větší vliv než samotný původ výrazný pohlavní dimorfismus v těchto znacích. Vliv pohlaví ovšem nebyl vzhledem k rané fázi ontogeneze, ve které byla kachňata sledována, v našich datech zaznamenán. Přesné vztahy mezi jednotlivými rozměry zobáku v dospělosti v rámci těchto dvou námi sledovaných populací nelze s jistotou předpokládat. Naše výsledky nicméně ukazují, že vzhledem k měřítku tělesné velikosti se většími rozměry zobáku vyznačovala kachňata z divoké populace. Ptačí zobák představuje tvarově variabilní a velmi adaptabilní anatomickou strukturu, která odráží ekologické i funkční potřeby v daném prostředí (Grant 1968, Pöysä 1983, Schneider 2005). Dostupnost potravy v zajetí a její skladba a velikost (např. pšenice, kukuřice, krmné pelety) tak mohly vést k relaxaci selekce na získávání potravy filtrací a tím ke změnám stavby zobáku

u jedinců z chovů. U divoké populace bude naopak kladen tlak na zachování optimálního tvaru tohoto aparátu (Champagnon et al. 2010, Söderquist et al. 2014).

Výše diskutované výsledky ukazují, že mezi jedinci z chovů a volně žijící populace byly i přes kontrolu na odlišnou velikost vajec a vývoj ve stejných podmínkách od rané fáze ontogeneze zjištěny rozdíly v hmotnosti i některých strukturálních rozměrech a jejich růstu. Naznačují tak, že doposud pozorované rozdíly mezi vypuštěnými jedinci a jedinci z divoké populace jsou determinované také geneticky a nejen individuálním vývojem v zajetí a že tyto rozdíly jsou u některých parametrů patrné již od vylíhnutí a s věkem se postupně zvětšují. S interpretací těchto výsledků však musíme být opatrní, jelikož u sledovaných parametrů i přes statistické ošetření rozdílné velikosti vajec z volné přírody a chovů nebylo možné odfiltrovat případný vliv maternálních efektů, jako jsou např. depozice androgenů (Schwabl 1996, Gil 2003) či kortikosteronů do vajec (Hayward & Wingfield 2004) či samotné velikosti vejce (Pehrsson 1991, Anderson and Alisauskas 2001, Krist et al. 2011) na růst mláďat.

Mimo hlavní téma této práce byly jako nadstavba pro prohloubení znalostí o problematice porovnány i morfologické znaky v rámci dvou kachních farem, z kterých byly získány vzorky vajec. Vzhledem k výměně samců mezi chovy při každoročním obměňování chovného hejna mezi některými chovnými zařízeními (Klatovské rybářství, Zimmer, osobní komunikace) a stejným směrem působícím selekčním tlakům jsme mezi chovy předpokládali absenci výrazné morfologické diferenciace. Jelikož jsou chovné samice v těchto zařízeních vystavovány obdobným podmínkám a vývoj vajec probíhal ve stejných podmínkách ode dne naklazení, byly v tomto případě porovnány absolutní hodnoty naměřených parametrů. Jednotlivě byly porovnány i některé vzájemně korelující znaky, jelikož – jak ukazuje analýza mezi chovy a divokými kachňaty – i mezi těmito parametry mohou být vztahy odlišné (viz např. standardizovaná délka a šířka zobáku), a tyto analýzy tak mohou být smysluplné. Rozměry vajec ani kachňat se mezi chovnými zařízeními výrazně nelišily v žádném z měřených parametrů, variabilita mezi jednotlivými chovy tak byla výrazně nižší oproti variabilitě mezi chovy a divokou populací. Tyto výsledky tak potvrzují předpoklad vysoké morfologické homogenity mezi jednotlivými chovy.

### **5.3 Hematologické parametry a aktivita komplementu**

Pokud je nám známo, hematologické i sérologické parametry mezi divokými populacemi a populacemi z intenzivních chovů kachny divoké, ať už u juvenilních či adultních jedinců, nebyly doposud zkoumány. Hematologické parametry mohou být důležitým ukazatelem jak

zdravotního stavu a aktivity imunitního systému, tak i kondice, metabolismu či chronického stresu jedince (Vleck et al. 2000, Villegas et al. 2004, Nadolski et al. 2006, Davis et al. 2008, Vinkler et al. 2010, Svobodová 2013). Hematologické znaky jsou ovlivněny mnoha vnitřními i vnějšími faktory (Yamato et al. 1996, Ewenson et al. 2001, Soler et al. 2003, Villegas et al. 2004, Klempt et al. 2006, Fisher et al. 2010, Kaminski et al. 2014), přesto jsou do určité míry determinovány geneticky (Cheng et al. 1991, Klempt et al. 2006, Kelada et al. 2012). Předpokládali jsme, že jedinci z chovů se budou v námi sledovaných hematologických parametrech od divoké populace odlišovat vzhledem k odlišným selekčním tlakům v intenzivních chovech a přirozeném prostředí (Ewenson et al. 2001, Buehler et al. 2008). Vzhledem ke komplexitě faktorů, které hematologické parametry ovlivňují, však bylo velmi obtížné a priori předpokládat polaritu případných rozdílů mezi divokou populací a populací z chovů.

Poměr heterofilů ku lymfocytům bývá používán jako indikátor dlouhodobě působícího stresu i kondice a zdravotního stavu jedince (Ots et al. 1998, Vleck et al. 2000, Davis et al. 2008, Fokidis et al. 2008, Masello et al. 2009, Vinkler et al. 2010). Krátkodobou manipulací by poměr H/L neměl být ovlivněn (Vleck et al. 2000, Davis 2005, Van Rijn & Reina 2010), ale v případě dlouhodobého působení stresu dochází v periferní krvi (resp. na nátěru) k jeho zvýšení (Gross & Siegel 1983, Vleck et al. 2000, Davis et al. 2008).

Silnější odpověď na stres v podmínkách zajetí jsme předpokládali u jedinců z divoké populace, jelikož u zvířat v zajetí bylo pozorováno snižování fyziologické odpovědi na stres (Künzl & Sachser 1999, Lepage et al. 2000, Solberg et al. 2013). Tento předpoklad ovšem nebyl potvrzen, jelikož původ kachňat neměl na poměr H/L průkazný vliv. Pouze při prvním odběru ve věku 3 dní byly u divokých kachňat zaznamenány mírně zvýšené hodnoty H/L, tento rozdíl však byl na hranici signifikance. Mezi prvním odběrem a dalšími odběry (ve věku 9. a 15. dní) došlo u obou sledovaných skupin k prudkému snížení H/L, pravděpodobně v důsledku vývoje jednotlivých složek imunitního systému v průběhu rané ontogeneze (Lowry et al. 1997, Dehnhard et al. 2011). Alternativním vysvětlením by mohlo být zvýšení hodnot H/L následkem střednědobého působení silného stresoru (Fisher et al. 2010, Van Rijn & Reina 2010), který mohlo představovat několikahodinové držení vylihnutých kachňat v pytlících, jež omezovaly jejich možnost pohybu, či přechod ze stabilních podmínek inkubátoru do odlišného a chladnějšího prostředí jejich ubikací. V tomto případě by zvýšení poměru H/L, mírně vyšší u divokých kachňat, korespondovalo s předpokladem vyšší stresové reakce u divokých kachňat. Následné krátkodobé manipulace v průběhu pokusu pak nemusely představovat silný stresor,

který by byl promítnut do poměru H/L (Van Rijn & Reina 2010), a proto došlo po doznění stresové situace k jeho poklesu (Fisher et al. 2010). Poměr H/L se pak dále výrazně nelišil ani mezi druhým a třetím odběrem, ani mezi mláďaty z chovů a volně žijící populace. Poměr H/L byl závislý také na pohlaví. Mírně zvýšenými hodnotami H/L se bez ohledu na původ vyznačovali samci. Při prvním odběru byla také patrná negativní závislost mezi hmotností kachňat a poměrem H/L. Stejná, ovšem již nevýrazná tendence byla i v dalších měřeních. Naopak jsme nezaznamenali žádný vztah mezi H/L a residuální velikostí tarzu. Předchozí studie často studovaly poměr H/L v souvislosti s tělesnou kondicí, jejich závěry však nejsou jednoznačné. Vinkler et al. (2010) například zjistili u volně žijících mláďat hýla rudého (*Carpodacus erythrinus*) mezi poměrem H/L a kondicí jedince (vyjádřené jako hmotnost/délka tarzu) negativní závislost. Naopak u divokých papoušků patagonských (*Cyanoliseus patagonus*) se mláďata s vyšší kondicí vykazovala vyššími hodnotami H/L, dobře živení jedinci tak pravděpodobně více investovali do nespecifické imunitní odpovědi (Masello et al. 2009).

Na rozdíl od nevýrazného vlivu původu na zastoupení heterofilů ku leukocytům se vyššími hodnotami hematologického profilu, jenž zahrnoval zastoupení monocytů, bazofilů a eozinofilů, vyznačovali jedinci z divoké populace. Stejně jako u H/L tento znak bez ohledu na původ mláďat nabýval vyšších hodnot u samců a dále byl negativně závislý na strukturní velikosti (tj. residuální velikosti tarzu). Zvýšení těchto typů leukocytů hrajících důležitou roli ve vrozené imunitní obraně lze zaznamenat např. v případě parazitární infekce (Saino et al. 1998, Garvin et al. 2003, Belskii et al. 2005, Vinkler et al. 2010). Zvýšené počty bazofilů byly pozorovány i v reakci na stres (Bedáňová et al. 2007). Kachňata nebyla nijak vyšetřena na přítomnost parazitů, nicméně vzhledem k hygienickým podmínkám v prostředí experimentálních chovů, ve kterých byla kachňata držena, a jejich izolaci od ostatních ptáků jsme u nich nepředpokládali zvýšení hodnot v důsledku patogenní zátěže a přítomnost výrazného stresoru nepotvrdily hodnoty H/L. Vyšší hodnoty tohoto znaku by tak mohly představovat spíše větší investice divokých a menších mláďat do složek vrozené nespecifické imunity. Vzhledem k nízkému zastoupení těchto typů leukocytů a k pozorované dynamice u poměru H/L mezi jednotlivými odběry musíme být při interpretaci těchto výsledků na interindividuální úrovni opatrní. Zjištění zastoupení jednotlivých typů leukocytů na vzorku cca 100 buněk (jako v našem případě) poskytne spolehlivý odhad majoritně zastoupených heterofilů a lymfocytů, nicméně pro odhad stejně reprezentativního výsledku u ostatních typů leukocytů se doporučuje u zdravých zvířat vyhodnotit vzorek cca 300 buněk (Lucas & Jamroz 1961).



Stanovení počtu imaturních erytrocytů je poměrně málo využívanou hematologickou metodou (ale např. Belskii et al. 2005, Carleton 2008, Vinkler et al. 2010, Svobodová et al. 2013). Dynamika tvorby erytrocytů může přitom představovat další z parametrů vypovídající o fyziologickém stavu jedince, mohla by např. sloužit jako indikátor rychlosti krvetvorby a tedy míry metabolismu u zdravých jedinců či jako prediktor růstu u mláďat (Vinkler et al. 2010). V námi získaných datech byla v zastoupení imaturních erytrocytů zřetelná dynamika mezi jednotlivými odběry. U divokých mláďat i mláďat z chovů došlo v různé míře k zvýšení počtu erytrocytů mezi 3. a 9. dnem věku a následně jeho snížení mezi 9. a 15. dnem.

Počet imaturních erytrocytů vykazoval také odlišné trendy u populací z chovů a volné přírody v závislosti na hmotnosti a jejich věku. Zatímco u jedinců z chovů byla po celou dobu pokusu patrná pozitivní závislost mezi zastoupením imaturních erytrocytů a hmotností mláďat, u jedinců z divoké populace nebyl tento vztah mezi jednotlivými odběry konstantní. Ve věku 3 dní byl u nich zaznamenán silně pozitivní vztah, který nebyl při odběru ve věku 9 dní již patrný a v posledním odběru byl zaznamenán naopak negativní vztah (Obr. 4.16). Rozdílný byl mezi jednotlivými odběry také vztah mezi imaturními erytrocyty a strukturní velikostí (residuální délka tarzu), jež však nebyl ovlivněn původem kachňat. Počet imaturních erytrocytů zjištěný ve věku 9 dní se v závislosti na velikosti jedince snižoval, zatímco v ostatních měřeních (3. a 15. den věku) byla nesignifikantní, avšak opačná tendence (Obr. 4.16). Počet imaturních erytrocytů se tak v naší práci neukázal jako vhodný prediktor růstu mláďat, jak navrhuji Vinkler et al. (2010), vzhledem k jeho komplexnímu vztahu s genetickým původem, stářím a hmotností kachňat, která byla v našich datech dobrým prediktorem hmotnostních přírůstků. Zatímco u mláďat z chovů pozitivní vztah mezi poměrem imaturních erytrocytů a hmotností mláďat ve všech věkových kategoriích koresponduje se závěry Vinklera et al. (2010), negativní vztah ve věku 15 dní u divokých mláďat je s touto hypotézou v rozporu. Ontogeneze krvetvorby se tak minimálně v raném stadiu vývoje mezi těmito populacemi liší a její vztahy se znaky vypovídající o kondici jedince tak nejsou jednoznačné.

K posouzení případných odlišností mezi divokou a chovnou populací v míře nespecifické imunitní reakce jsme stanovili celkovou bakteriolytickou aktivitu složek komplementového systému v plazmě (Buchtíková et al. 2011, Scotti et al. 2015). U kachen z intenzivních chovů jsme předpokládali adaptace imunitního systému na podmínky v zajetí (Homburger et al. 2013). Je otázkou, zda je prevalence a virulence jednotlivých patogenů vyšší u divokých populací anebo u jedinců v chovech a jaké mají tyto odlišnosti vliv na evoluci imunitního systému. Na jednu stranu je riziko šíření infekce v chovech sníženo veterinární péčí a hygienickými

opatřeními a omezeným kontaktem s možnými přenašeči, na druhou stranu je zde vyšší riziko přenosu patogenů v důsledku vysokých denzit zvířat na relativně malém prostoru a v neposlední řadě i jejich relativně uniformního genetického pozadí, které snižuje pravděpodobnost výskytu alel imunitních genů umožňujících rezistenci proti danému patogenu (Čížková et al. 2012). Buehler et al. (2008) došli k závěru, že populace zvířat v zajetí jsou obvykle vystaveny silnému tlaku několika málo patogenů, zatímco volně žijící populace jsou adaptované na obranu proti vysoké diverzitě patogenů a vyznačují se tak vyšší nespecifickou imunitní odpovědí, tedy první obrannou linií proti infekci patogenem. V souladu s tímto předpokladem je např. i studie Spinu et al. (1999), jež ukázala, že divoké populace pštrosů se vyznačují účinnější nespecifickou imunitou, zatímco jedinci z domestikované populace specifickou imunitní odpovědí. Předpokládali jsme tak, že jedinci z divoké populace se budou vyznačovat vyšší bakteriolytickou účinností složek komplementového systému proti bakteriím (konkrétně modelovému luminescenčnímu kmeni *Escherichia coli*).

Naše data ovšem vedla k opačnému závěru. Vyšší účinnost komplementu byla zjištěna u jedinců z chovů, přičemž mezi touto a divokou populací byl patrný také opačný vztah mezi bakteriolytickou aktivitou komplementu a tělesnou hmotností kachňat. U mláďat z divoké populace se s rostoucí hmotností účinnost komplementu snižovala, u mláďat z chovů naopak zvyšovala. Nižší bakteriolytická účinnost komplementového systému u divokých jedinců by mohla být vysvětlena jejich vyšší náchylností ke stresu v podmínkách zajetí (Künzl & Sachser 1999, Lepage et al. 2000, Solberg et al. 2013), jelikož zvýšená míra stresu může vést k snížení funkční aktivity komplementu (Purdy et al. 1991, Ayensu et al. 1995). Absence výrazného rozdílu v poměru heterofilů ku lymfocytům mezi sledovanými skupinami ovšem toto vysvětlení nepodporuje. Komplexní vztah mezi hmotností a aktivitou komplementu mezi divokou populací a populací z chovů může naznačovat také přítomnost odlišných regulačních mechanismů ovlivňující investice do tělesné velikosti a imunitního systému u těchto populací. Vzhledem k vysoké nákladnosti rozvoje a udržování imunitního systému (Hanssen et al. 2004, Klasing et al. 2004), by mohla kachňata z chovů adaptovaná na dostatek potravy investovat do imunitního systému v souladu s množstvím dostupných zdrojů, představovaných v tomto případě jejich hmotností. U divokých populací by pak mohly mít vyšší investice do složek komplementového systému u jedinců s nižší hmotností spíše kompenzační efekt. Imunitní obrana je však velmi komplexní fenomén (Schmid-Hempel & Ebert 2003), pozorované trendy tak nelze lehce zjednodušovat.

Jedinci z chovů a volné přírody se tedy lišili účinností komplementového systému a hematologickým profilem popisujícím zastoupení eozinofilů, monocytů a bazofilů. Poměr H/L a zastoupení imaturních erytrocytů se vyznačovaly dynamickými změnami mezi jednotlivými odběry i v závislosti na morfologických parametrech. Navíc v případě počtu imaturních erytrocytů byla tato dynamika značně odlišná mezi divokými jedinci a jedinci z chovů. Výsledkem pozorované dynamiky je komplexní pattern, který lze bez dalších experimentů jen obtížně interpretovat. Obdobně jako v případě hematologických parametrů mohou komplexním ontogenetickým vývojem procházet i další komponenty imunitního systému. Nemůžeme vyloučit, že stejně jako v předchozích případech se může v této fázi ontogeneze dynamicky vyvíjet i aktivita komplementu a námi pozorovaný vztah pak koresponduje pouze s aktuálním stavem vývoje jedinců. Výsledky tak ukazují, že při studiu hematologických parametrů u juvenilních jedinců je vhodné odběry opakovat, jelikož se tyto v čase dynamicky mění a závěry odvozené z jediného odběru mohou být značně zkreslené. Je ovšem zřejmé, že např. v imunoekologickém výzkumu volně žijících živočichů je tato možnost značně limitovaná.

Pozorované vztahy tak naznačují odlišné strategie vývoje některých hematologických i sérologických parametrů mezi těmito populacemi i přes minimalizaci vlivu vnějšího prostředí na tyto znaky. Avšak stejně jako u růstových parametrů nemůžeme ani zde zcela vyloučit možnost, že pozorované rozdíly jsou částečně ovlivněny maternálními efekty (např. Soler et al. 2003, Pihlaja et al. 2006). Nicméně pro samotnou velikost vejce nebylo prokázáno, že by měla na některé aspekty (např. prozánětlivou imunitní reakce) imunitního systému vliv (Krist 2009, Krist 2011).

## 5.4 Projevy chování

Změny selekčních tlaků v podmínkách zajetí mohou vést také k posunu či postupné ztrátě přirozených behaviorálních projevů (McPhee 2004, Desforgues & Woodgush 1975). U jedinců kachny divoké vypuštěných z umělých odchoven bylo ve srovnání s divokými jedinci pozorováno například snížení jejich migračních tendencí (Errington & Albert 1936, Soderquist et al. 2013) a ztráta přirozeného antipredačního chování – snížení útekové vzdálenosti před člověkem, nízká ostražitost a vyšší agregace do velkých skupin (Schladweiler & tester 1972, Osborne et al. 2010). Jedinci pocházející z divoké linie odchovaní v zajetí po vypuštění ovšem vykazovali stejné migrační i antipredační chování jako divocí jedinci (Lee & Kruse 1973, Sellers 1973). Na základě tohoto srovnání a závěrů dalších studií (McPhee 2004, Santilli et al.

2004, Jensen & Andersson 2005, Håkansson et al. 2007) je možné předpokládat, že odlišnosti v projevech chování mezi původní divokou populací a populacemi z chovů jsou dané nejen vývojem v odlišných podmínkách, ale také jejich genetickou diferenciací. Tento předpoklad však nebyl u kachny divoké v žádné z předchozích studií ověřen v kontrolovaných podmínkách.

Ke zhodnocení potenciální divergence některých projevů chování u D a CH populace při ontogenezi ve stejných podmínkách byl využit tzv. open field test. Přes svou jednoduchost může být open field test (dále OFT) rychlým, přesto dostatečně citlivým testem k zachycení rozdílů v projevech chování (Ossenkopp 1980). Chování v OFT bývá často interpretováno jako projev explorační v neznámém prostředí (Hughes 1997). V naší provedené studii se však vzhledem k designu pokusu a stáří kachňat jednalo spíše o separační test, ve kterém chování odráží více snahu o útěk z arény nežli samotnou exploraci. Suarez a Gallup (1980, 1981; Gallup & Suarez 1980) navrhli, že chování v OFT u kachňat, kuřat i hlodavců představuje kompromis mezi dvěma adaptivními chováními – snahou vyhnout se detekci predátorem a tendencí dosáhnout sociálního kontaktu se svými druhy (social reinstatement). Předpokládali jsme, že v takto raném věku převládá u kachňat motivace k znovushledání se skupinou nad antipredační motivací (Suarez & Gallup 1983) a že divoká kachňata budou více vokalizovat a budou aktivnější ve snaze dostat se zpět ke své skupině, jelikož kontakt se samicí a sourozenci je v přirozeném prostředí předpokladem pro jejich přežití (Mauser et al. 1994), zatímco v chovech bude selekce na toto chování relaxovaná.

OFT byl s týdenním intervalem zopakován pro zjištění opakovatelnosti jednotlivých prvků chování (Williams et al. 2012). Opakovatelnost chování daného jedince v čase a jeho konzistence v různém kontextu napříč různými testy jsou hlavními předpoklady pro studium personality (Gosling 2001, Sih et al. 2004). Ambicí této práce ovšem nebylo hodnocení personality, pouze zachycení případných rozdílů v projevu chování mezi kachňaty z intenzivních chovů a volné přírody. Zhodnocení opakovatelnosti však poskytlo náhled na stálost projevů chování daného jedince v čase a tedy relevantnost jejich následné analýzy. Opakovatelnost chování byla také používána ke stanovení horního limitu jeho dědivosti (Boake 1989). Převážná většina pozorovaných prvků chování kachňat byla opakovatelná. Nejvíce opakovatelné byly projevy chování spojené s pohybovou aktivitou – doba chůze, délka trajektorie, četnost i latence skákání a také doba vokalizace. Bell et al. (2009) v metaanalýze zabývající se opakovatelností behaviorálních testů zjistili, že opakovatelnost aktivity je celkově podprůměrná, tato metaanalýza však zahrnovala i typy chování jako výběr habitatu, páření či

preferance partnera, jež jsou značně konzistentní. V metaanalýze Žampachové (2013), do níž byly zahrnuty jen projevy chování související s personalitou, byla opakovatelnost aktivity naopak mírně nadprůměrná. Nižší opakovatelnost některých prvků chování v naší studii, např. sezení či klování, mohla být daná jejich nízkou četností výskytu, způsobenou pravděpodobně krátkou testovací dobou (5 minut), četnost defekace mohla být zase ovlivněna aktuální nakrmeností testovaného kachněte.

Opakování testu umožnilo také zhodnotit změny v chování jednotlivých kachňat mezi těmito testy. Mezi prvním a druhým testem slábla tendence k lokomoční aktivitě. Došlo jak k poklesu celkové doby chůze, tak poklesu délky trajektorie, což je ovšem logické, jelikož spolu tyto dva parametry silně korelují. Naproti tomu byl zaznamenán nárůst doby sezení. Změny v chování mezi sérií testů mohou být zapříčiněny habituací na neznámé prostředí (Leussis & Bolivar 2006), nicméně námi pozorované změny byly s velkou pravděpodobností způsobené především nízkým věkem kachňat a velkým posunem v jejich vývoji mezi 7. a 14. dnem věku (Guenther et al. 2014), během kterého mohlo dojít i k postupnému snižování sociální motivace (Suarez & Gallup 1983).

Výsledky srovnání chování kachňat z chovů a divoké populace potvrdily předpoklad vyšší aktivity u kachňat z volně žijící populace. Divoká kachňata vykazovala průkazně vyšší míru aktivity na základě srovnání jednotlivých parametrů chování i první komponenty PCA, jež vyjadřovala osu aktivity – pasivity. Tento rozdíl ovšem nebyl nijak výrazný. Tyto výsledky jsou tak v souladu s předpokladem vyšší míry stresu způsobeném separací od ostatních kachňat u divokých jedinců a jejich vyšší snahou dostat se ke své skupině. Vyšší soudržnost byla v laboratorních podmínkách pozorována například i u kuřat kura bankivského (*Gallus gallus*) ve srovnání s nosným plemenem kura domácího (*Gallus gallus f. domestica*; Väisänen & Jensen 2003). Aktivita ovšem může být naopak známkou sníženého strachu, její interpretace tak může být závislá na kontextu (Campler et al. 2009).

Původ neměl vliv na druhou komponentu analýzy hlavních komponent, která pravděpodobně vyjadřovala reakci na stres z izolace v neznámém prostředí. Interpretace této komponenty byla již obtížnější – pokusy o výskok pozitivně korelovaly i s první komponentou a klování do stěn, podkladu arény a vlastního trusu by mohlo být vysvětlené jako projev explorační, mohlo by být ovšem i projevem přeskokového chování či snahou o únik z arény, které by oproti exploračnímu chování byly naopak způsobené silným stresem. Při srovnání samotného parametru četnosti klování na základě původu klovala více kachňata divoká.

Nicméně opakovatelnost klování byla poměrně nízká, jeho exprese tak mohla být ovlivněna vnějšími vlivy, jako je denní doba či momentální nasycenost kachněte.

Oproti očekávání neměl původ signifikantní vliv také na celkový součet času, kdy jednotlivá kachňata vokalizovala, ani na latenci vokalizace. Až na naprosté výjimky se po celou dobu jednalo o tzv. distress call (stresové volání), jeden ze dvou hlavních rozlišitelných hlasů u kachňat, který bývá vyvolán separací od hejníka a matky nebo snížením počtu kachňat ve skupině (Bermant 1963, Gaioni et al. 1977). Převážná většina kachňat začala vokalizovat záhy po umístění do testovací arény, přestože manipulace experimentátora se zvířetem při jeho odchycení, přenosu či umístění do testovacího zařízení by mohla představovat pro testované zvíře predační stimul (Suarez & Gallup 1982) a přirozenou reakcí na predační stimul je u kachňat tzv. freezing, tedy strnutí kachněte a přerušení vokalizace po určitou dobu (Suarez & Gallup 1980, Faure et al. 1983). Na příchod experimentátora po ukončení testu reagovala všechna kachňata bez ohledu na jejich původ kontaktním hlasem. Kontaktní hlasy (contentment calls) jsou obvykle produkovány v sociálním kontextu v přítomnosti sourozeneckého hejníka a matky (Abraham 1974). Výše zmíněné projevy chování podporují představu, že chování kachňat bylo pravděpodobně motivováno především soudržností – snahou vrátit se zpátky ke své skupině než snahou vyhnout se predátorovi. Projevy chování v OFT ovšem mohou být interpretovány více způsoby, často jsou vysvětlovány např. jako chování motivované strachem (tzv. fear hypothesis), různé interpretace se nicméně nemusí vzájemně vylučovat (Jones 1983, Jones & Merry 1988). K patřičnému zhodnocení chování mládřat kachny divoké z vypouštěné a divoké populace by bylo proto potřeba provést další doplňující testy, zkoumající chování v jiném kontextu, např. v přítomnosti predačního stimulu.

Kachňata z divoké populace byla průkazně aktivnější oproti kachňatům z chovů i při vývoji ve stejných podmínkách. Pozorovaná behaviorální divergence mezi jedinci z těchto populací (např. Osborne et al. 2010, Soderquist et al. 2013) je tak z určité části daná jejich odlišným genetickým pozadím. Stejně jako u předchozích parametrů ovšem nemůžeme ani u projevů chování vyloučit vliv maternálního efektu skrze např. rozdílné depozice hormonů do vajec (Gil 2003, Rubolini et al. 2005). Geneticky determinované rozdíly v chování v common garden experimentu potvrdili ale např. také Santilli et al. (2014) u bažantů obecných (*Phasianus colchicus*) z chovů a potomstva odchycených divokých jedinců či Jensen a Andersson (2005) u kura bankivského (*Gallus gallus*) ve srovnání s nosným plemenem kura domácího (*Gallus gallus f. domestica*).

V této práci jsme pomocí common garden experimentu zjišťovali, zdali jsou pozorované odlišnosti mezi populacemi z chovů a volně žijícími populacemi dány jejich fenotypovou plasticitou při vývoji v odlišných podmínkách či geneticky determinované. Výsledky potvrzují předpoklad, že v některých znacích budou u juvenilních jedinců kachny divoké patrné rozdíly i při vývoji ve stejných podmínkách od stadia vejce. Zřetelné rozdíly byly pozorovány jak v růstových parametrech, tak hematologických parametrech popisujících jejich kondici, v účinnosti nespecifické imunitní odpovědi i míře aktivity v jednoduchém behaviorálním testu. Tyto i další rozdíly pozorované mezi těmito populacemi by tak mohly být determinované geneticky a v případě introgrese těchto znaků do divoké populace by vypouštění mohlo mít vliv na fenotyp volně žijících populací a tím negativně ovlivnit jejich fitness. Námi zaznamenané rozdíly však mohly být částečně ovlivněny také maternálními efekty (Schwabl 1996, Gil 2003), jelikož jsme neměli kontrolu nad podmínkami prostředí parentální generace. Budoucí studie na toto téma by se proto měly zaměřit na porovnání morfologických parametrů u první filiální generace držené ve standardizovaných podmínkách, u které nebude tak vysoké riziko zkreslení výsledků v důsledku maternálních efektů.

## 6 Závěr

Pomocí experimentálního odchovu kachňat z vajec z komerčních chovů a vajec z volné přírody jsme zjišťovali, zdali se budou morfologické, hematologické i behaviorální fenotypové znaky kachňat z chovů a volně žijící populace lišit i přes vývoj ve stejných podmínkách (common garden experiment), tj. jestli mohou být doposud pozorované rozdíly ve fenotypu výsledkem genetické diferenciaci vlivem odlišných selekčních tlaků a mikroevolučních procesů v chovech, nebo zdali jsou dané fenotypovou plasticitou vyplývající z odlišných podmínek prostředí v zajetí a volné přírodě.

Mezi vejci z chovů a divoké populace byl zřetelný velikostní rozdíl. Vejce z chovů se vyznačovala větším objemem i tvarovým indexem (tj. byla kulatější). Růstové parametry tak byly při statistické analýze ošetřeny na velikost vejce. Vyšší hmotností i při kontrole na velikost vejce se vyznačovala kachňata z chovů, přičemž po celou dobu pokusu se rozdíl v nárůstu hmotnosti průběžně zvětšoval. Standardizovaná délka tarzu (ošetřená na hmotnost kachňat) dosahovala i při zohlednění velikosti vejce po celou dobu pokusu větších rozměrů naopak u kachňat z divoké populace. Tento rozdíl ovšem nebyl nijak výrazný a v průběhu pokusu se neměnil. Větší byla u mláďat z divoké populace také standardizovaná šířka zobáku a výška zobáku (rozměr zobáku vztažený k délce tarzu). Původ kachňat naopak neměl průkazný vliv na růst standardizované délky zobáku a standardizovanou plochu plováku. Přestože tak byli jedinci z chovů těžší, vzhledem k měřítku tělesné velikosti se většími rozměry zobáku vyznačovala kachňata z divoké populace.

Pro vhled do dané problematiky byly porovnány i morfometrické parametry mezi dvěma chovnými zařízeními. V žádném z měřených parametrů nebyl mezi těmito chovy zjištěn průkazný rozdíl. Tyto výsledky tak potvrdily předpoklad vysoké homogenity mezi jednotlivými chovy.

Analýza hematologických parametrů, jako jsou diferenciální počet leukocytů a počet imaturních erytrocytů, ukázala komplexní trendy v rámci těchto znaků. Poměr heterofilů ku lymfocytům (H/L) a zastoupení imaturních erytrocytů se vyznačovaly dynamickými změnami mezi jednotlivými odběry i v závislosti na morfologických parametrech. Navíc v případě počtu imaturních erytrocytů byla tato dynamika značně odlišná mezi divokými jedinci a jedinci z chovů. Vyšší hodnoty hematologického profilu, jenž zahrnoval zastoupení monocytů, bazofilů a eozinofilů, byly zjištěny u jedinců z divoké populace. Vyšší bakteriolytickou účinností komplementového systému, tedy jedné z hlavních složek humorální nespecifické



imunity, se vyznačovali jedinci z populace z chovů. Účinnost komplementového systému se mezi těmito populace lišila také ve vztahu k tělesné hmotnosti.

V open field testu divoká kachňata prokazatelně vykazovala oproti kachňatům z chovů zvýšenou míru aktivity, což částečně potvrdilo náš předpoklad, že ve snaze získat pozornost své skupiny, potažmo matky, budou divoká mláďata více vokalizovat a ve snaze dostat se ven z arény budou aktivnější. Na míru vokalizace neměl původ kachňat vliv.

Výsledky common garden experimentu ukazují, že některé fenotypové znaky se odlišují mezi mláďaty kachny divoké z chovů a volné přírody i přes minimalizaci vlivu vnějšího prostředí na tyto znaky. Pozorované rozdíly tak mohou být determinované geneticky a nejen fenotypovou plasticitou sledovaných znaků. Přesto nemůžeme vyloučit vliv maternálního efektu.

## *Seznam zkratek*

D	Jedinci z divoké, volně žijící populace
Df	počet stupňů volnosti
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
CH	Jedinci z krotkých odchovů
H/L	poměr heterofilů ku lymfocytům
MAM	Minimální adekvátní model
MHC	Major histocompatibility complex, hlavní histokompatibilní komplex
OFT	Open field test, “test otevřeného pole“
P	dosažená hladina významnosti
PC	Principal component, hlavní komponenta
PCA	Principal component analysis, analýza hlavních komponent
PCR	Polymerázová řetězová reakce
$r_s$	Spearmanův koeficient korelace
SEČ	Středoevropský čas
SNP	Single nucleotide polymorphism, jednonukleotidový polymorfismus

## *Seznam použité literatury*

- Abraham, R. L. (1974). Vocalizations of the Mallard (*Anas platyrhynchos*). *Condor*, 76(4): 401-420.
- Agoramoorthy, G. & Hsu, M. J. (2007) Ritual releasing of wild animals threatens island ecology. *Human Ecology*, 35(2): 251-254.
- Altuntaş, E. & Şekeroğlu, A. (2008) Effect of egg shape index on mechanical properties of chicken eggs. *Journal of Food Engineering*, 85(4): 606-612.
- Anderson, V. R. & Alisauskas, R. T. (2001). Egg size, body size, locomotion, and feeding performance in captive King Eider ducklings. *The Condor*, 103(1): 195-199.
- Anderson, K. E., Tharrington, J. B., Curtis, P. A. & Jones, F. T. (2004) Shell characteristics of eggs from historic strains of single comb white leghorn chickens and the relationship of egg shape to shell strength. *International Journal of Poultry Science*, 3(1): 17-19.
- Araki, H., Cooper, B. & Blouin, M. S. (2007) Genetic effects of captive breeding cause a rapid, cumulative fitness decline in the wild. *Science*, 318: 100-103.
- Armstrong, D. P., & Seddon, P. J. (2008). Directions in reintroduction biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(1), 20-25.
- Atosuo, J., Lehtinen, J., Vojtek L. & Lilius, E. M. (2013) *Escherichia coli* K-12 (pEGFPluxABCDEamp): a tool for analysis of bacterial killing by antibacterial agents and human complement activities on a real-time basis. *Luminescence*, 28: 771-779.
- Ayensu, W. K., Pucilowski, O., Mason, G. A., Overstreet, D. H., Rezvani, A. H. & Janowsky, D. S. (1995) Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference, and corticosterone levels in Flinders lines of rats. *Physiology & behavior*, 57(1): 165-169.
- Baldassarre, G. A. & Bolen, E. G. (2006) *Waterfowl Ecology and Management 2nd edition*. Krieger Publishing Company. Malabar, Florida, USA.
- Banks, A. N., Wright, L. J., Maclean, I. M. D., Hann, C. & Rehfisch, M. M. (2008) *Review of the Status of Introduced Non-Native Waterbird Species in the Area of the African-Eurasian Waterbird Agreement: 2007 Update*. British Trust for Ornithology, Thetford.
- Baratti, M., Baccetti, N., Cordaro, M., Mori, A., & Dessì-Fulgheri, F. (2014). Investigating the puzzling genetic structure of mallard populations (*Anas platyrhynchos* L.) in Italy. *European Journal of Wildlife Research*, 61(1), 81-89.
- Baratti, M., Cordaro, M., Dessì-Fulgheri, F., Vannini, M. & Fratini, S. (2009) Molecular and ecological characterization of urban populations of the mallard (*Anas platyrhynchos* L.) in Italy. *Italian Journal of Zoology*, 76: 330-339.
- Barbanera, F., Pergams, O. R. W., Guerrini, M., Forcina, G., Panayides, P. & Dini, F. (2010) Genetic consequences of intensive management in game birds. *Biological Conservation*, 143: 1259-1268.
- Bedáňová, I., Voslářová, E., Večerek, V., Pištěková, V. & Chloupek, P. (2007) Haematological profile of broiler chickens under acute stress due to shackling. *Acta Veterinaria Brno*, 76(1): 129-135.
- Bell, A. M., Hankison, S. J. & Laskowski, K. L. (2009) The repeatability of behaviour: a meta-analysis. *Animal Behaviour*, 77(4): 771-783.
- Belskii, E. A., Lugas' Kova, N. V. & Karfidova, A. A. (2005) Reproductive parameters of adult birds and morphophysiological characteristics of chicks in the pied flycatcher (*Ficedula hypoleuca* Pall.) in technogenically polluted habitats. *Russian Journal of Ecology*, 36(5): 329-335.
- Bermant, G. (1963) Intensity and rate of distress calling in chicks as a function of social contact. *Animal Behaviour*, 11(4): 514-517.
- Birdlife International (2004) *Birds in Europe: populations, estimates, trends and conservation status*. BirdLife Conservation Series No. 12, Birdlife International, Cambridge.

- Black, J. M. (1991) Reintroduction and restocking: guidelines for bird recovery programmes. *Bird Conservation International*, 1(04): 329-334.
- Boake, C. R. (1989) Repeatability: its role in evolutionary studies of mating behavior. *Evolutionary Ecology*, 3(2): 173-182.
- Bolen, E. G. (2000) Waterfowl management: yesterday and tomorrow. *The Journal of Wildlife Management*, 64: 323-335.
- Bragstad, K., Jørgensen, P. H., Handberg, K. J., Møllergaard, S., Corbet, S. & Fomsgaard, A. (2005) New avian influenza A virus subtype combination H5N7 identified in Danish mallard ducks. *Virus Research*, 109: 181-190.
- Brakhage, G. K. (1953) Migration and mortality of ducks hand-reared and wild-trapped at Delta, Manitoba. *The Journal of Wildlife Management*, 4: 465-477.
- Broyer, J. & Curtet, L. (2012) Biodiversity and fish farming intensification in French fishpond systems. *Hydrobiologia*, 694: 205-218.
- Buckley, J. A. (1977) Heinz body hemolytic anemia in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to chlorinated wastewater. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 34(2): 215-224.
- Buchtíková, S., Šimková, A., Rohlenová, K., Flajšhans, M., Lojek, A., Lilius, E. M. & Hyršl, P. (2011) The seasonal changes in innate immunity of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 318: 69-175.
- Buehler, D. M., Piersma, T. & Irene Tieleman, B. (2008) Captive and free-living red knots *Calidris canutus* exhibit differences in non-induced immunity that suggest different immune strategies in different environments. *Journal of Avian Biology*, 39(5): 560-566.
- Bull, J. J. (1987) Evolution of phenotypic variance. *Evolution*, 41(2): 303-315.
- Byers, S. M. & Cary, J. R. (1991) Discrimination of mallard strains on the basis of morphology. *The Journal of Wildlife Management*, 55: 580-586.
- Campbell, T. W. & Ellis, C. K. (2007) *Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology*, 3rd ed. Blackwell Publishing, Ames.
- Campler, M., Jöngren, M., & Jensen, P. (2009). Fearfulness in red junglefowl and domesticated White Leghorn chickens. *Behavioural Processes*, 81(1), 39-43.
- Carleton, R. E. (2008) Ectoparasites affect hemoglobin and percentages of immature erythrocytes but not hematocrit in nestling eastern bluebirds. *The Wilson Journal of Ornithology*, 120(3): 565-568.
- Cepák, J., Klvaňa, P., Škopek, J., Schröpfer, L., Jelinek, M., Hořák, D., Formánek, J. & Zárýbnický, J., eds. (2008) *Atlas migrace ptáků České republiky a Slovenska*. Avetinum, Praha.
- Champagnon, J. (2011) Consequences of the introduction of individuals within harvested population: the case of the Mallard *Anas platyrhynchos*. Dizertační práce, University of Montpellier II.
- Champagnon, J., Crochet, P. A., Kreisinger, J., Čížková, D., Gauthier-Clerc, M., Massez, G., Söderquist, P., Albrecht, T. & Guillemain, M. (2013). Assessing the genetic impact of massive restocking on wild mallard. *Animal Conservation*, 16(3): 295-305.
- Champagnon, J., Elmberg, J., Guillemain, M., Gauthier-Clerc, M. & Lebreton, J. D. (2012a) Conspecifics can be aliens too: a review of effects of restocking practices in vertebrates. *Journal for Nature Conservation*, 20: 231-241.
- Champagnon, J., Guillemain, M., Elmberg, J., Folkesson, K. & Gauthier-Clerc, M. (2010) Changes in Mallard *Anas platyrhynchos* bill morphology after 30 years of supplemental stocking. *Bird study*, 57: 344-351.
- Champagnon, J., Guillemain, M., Elmberg, J., Massez, G., Cavallo, F. & Gauthier-Clerc, M. (2012b) Low survival after release into the wild: assessing „the burden of captivity” on Mallard physiology and behaviour. *European Journal of Wildlife Research*, 58: 255-267.

- Champagnon, J., Guillemain, M., Gauthier-Clerc, M., Lebreton, J. D. & Elmberg, J. (2009) Consequences of massive bird releases for hunting purposes: Mallard *Anas platyrhynchos* in the Camargue, southern France. *Wildfowl Special Issue*, 2:184-191.
- Cheng, S., Rothschild, M. F. & Lamont, S. J. (1991) Estimates of quantitative genetic parameters of immunological traits in the chicken. *Poultry science*, 70(10): 2023-2027.
- Cheng, K. M., Shoffner, R. N., Phillips, R. E. & Lee, F. B. (1978) Mate preference in wild and domesticated (game-farm) mallards (*Anas platyrhynchos*): I. Initial preference. *Animal Behaviour*, 26: 996-1003.
- Cheng, K. M., Shoffner, R. N., Phillips, R. E. & Lee, F. B. (1979) Mate preference in wild and domesticated (game-farm) mallards: II. Pairing success. *Animal Behaviour*, 27: 417-425.
- Cheng, K. M., Shoffner, R. N., Phillips, R. E. & Lee, F. B. (1980) Reproductive performance in wild and game farm mallards. *Poultry Science*, 59: 1970-1976.
- Cramp, S. & Simmons, K.E.L. (Eds) (1980). *Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa. Vol 2: Hawks to bustard*. Oxford University Press.
- Crawley, M. J. (2007) *The R Book*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Crispin, C. F. Jr., Pederiva, C. N., Bose, R. C., Garcia, V. A., Lino-de-Oliveira, C. & Marino-Neto, J. (2012) ETHOWATCHER: validation of a tool for behavioral and video-tracking analysis in laboratory animals. *Computers in biology and medicine*, 42: 257-264.
- Cook, M. I., Beissinger, S. R., Toranzos, G. A., Rodriguez, R. A. & Arendt, W. J. (2003) Trans-shell infection by pathogenic micro-organisms reduces the shelf life of non-incubated bird's eggs: a constraint on the onset of incubation?. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1530): 2233-2240.
- Čížková, D., Javůrková, V., Champagnon, J. & Kreisinger, J. (2012) Duck's not dead: Does restocking with captive bred individuals affect the genetic integrity of wild mallard (*Anas platyrhynchos*) population? *Biological Conservation*, 152: 231-240.
- ČMMJ (2009) Péče o prostředí vodní pernaté zvěře [online]. [cit. 2015-07-15]. Dostupné z WWW: <http://www.cmmj.cz/Myslivost/Pece-o-prostredi-vodni-pernate-zvere.aspx>.
- Davis, A. K. (2005) Effect of handling time and repeated sampling on avian white blood cell counts. *Journal of Field Ornithology*, 76(4): 334-338.
- Davis, A. K., Maney, D. L. & Maerz, J. C. (2008) The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*, 22:760-772.
- Davis, A. K. (2009) The wildlife leukocyte webpage: the ecologist's source for information about leukocytes of wildlife species [online]. cit. [2015-05-13]. Dostupné z: <http://wildlifehematology.uga.edu>.
- Dehnhard, N., Quillfeldt, P., & Hennicke, J. C. (2011). Leucocyte profiles and H/L ratios in chicks of Red-tailed Tropicbirds reflect the ontogeny of the immune system. *Journal of Comparative Physiology B*, 181(5), 641-648.
- Desforges, M. F. & Wood-Gush, D. G. M. (1975) A behavioural comparison of domestic and mallard ducks. Habituation and flight reactions. *Animal Behaviour*, 23(3): 692-697.
- DGIF (2007) *An evaluation of captive-bred mallard releases in Virginia*. Mallard Release Committee, Virginia.
- Dingemanse, N. J., Both, C., Drent, P. J., Van Oers, K. & Van Noordwijk, A. J. (2002) Repeatability and heritability of exploratory behaviour in great tits from the wild. *Animal Behaviour*, 64: 929-938.
- Dubiec, A. & Zagalska-Neubauer, M. (2006) Molecular techniques for sex identification in birds. *Biological Letters*, 43: 3-12.

- Elmberg, J. (2009). Are dabbling ducks major players or merely noise in freshwater ecosystems? A European perspective, with references to population limitation and density dependence. *Wildfowl*, 9-23.
- Elmberg, J., Gunnarsson, G., Pöysä, H., Sjöberg, K., & Nummi, P. (2005) Within-season sequential density dependence regulates breeding success in mallards *Anas platyrhynchos*. *Oikos*, 108:582-590.
- Errington, P. L. & Albert, W. E. Jr. (1936) Banding studies of semidomesticated mallard ducks. *Bird-Banding*, 7: 69-73.
- Esser, A. F. (1994) The membrane attack complex of complement. Assembly, structure and cytotoxic activity. *Toxicology* 87(1): 229-247.
- Ewenson, E. L., Zann, R. A. & Flannery, G. R. (2001) Body condition and immune response in wild zebra finches: effects of capture, confinement and captive-rearing. *Naturwissenschaften*, 88(9): 391-394.
- Faure, J.M., Jones, R.B. & Bessei, W., (1983) Fear and social motivation as factors in open-field behaviour of the domestic chick. *Behavioral Biology*, 8: 103-116.
- Ferguson, S. A. & Bowman, R. E. (1990) Effects of postnatal lead exposure on open field behavior in monkeys. *Neurotoxicology and teratology*, 12: 91-97.
- Figley, W. K. & VanDruff, L. W. (1982) The ecology of urban mallards. *Wildlife Monographs*, 81: 3-39.
- Fisher, A. D., Niemeyer, D. O., Lea, J. M., Lee, C., Paull, D. R., Reed, M. T. & Ferguson, D. M. (2010) The effects of 12, 30, or 48 hours of road transport on the physiological and behavioral responses of sheep. *Journal of Animal Science*, 88(6): 2144-2152.
- Fokidis, H. B., Greiner, E. C. & Deviche, P. (2008) Interspecific variation in avian blood parasites and haematology associated with urbanization in a desert habitat. *Journal of Avian Biology*, 39(3): 300-310.
- Fridolfsson, A. K. & Ellegren, H. (1999) A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology*, 30: 116-121.
- Ford, M. J. (2002) Selection in captivity during supportive breeding may reduce fitness in the wild. *Conservation Biology*, 16: 815-825.
- Frynta, D. (1992) "Open field" behaviour in seven mice species (Muridae: Apodemus, Mus). *Prague Studies in Mammalogy*, Ivan Horáček a Vladimír Vohralík (eds.) Charles University Press, Praha.
- Gaioni, S. J., Hoffman, H. S., Klein, S. H. & DePaulo, P. (1977) Distress calling as a function of group size in newly hatched ducklings. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 3(4): 335.
- Gallup, G. G. & Suarez, S. D. (1980) An ethological analysis of open-field behaviour in chickens. *Animal Behaviour*, 28(2): 368-378.
- Garvin, M. C., Homer, B. L. & Greiner, E. C. (2003) Pathogenicity of *Haemoproteus danilewskyi*, Kruse, 1890, in blue jays (*Cyanocitta cristata*). *Journal of Wildlife Diseases*, 39(1): 161-169.
- Gauthier-Clerc, M., Lebarbenchon, C. & Thomas, F. (2007) Recent expansion of highly pathogenic avian influenza H5N1: a critical review. *Ibis*, 149: 202-214.
- Gil, D. (2003). Golden eggs: maternal manipulation of offspring phenotype by egg androgen in birds. *Ardeola*, 50(2): 281-294.
- Gille, U., & Salomon, F. V. (1999). Growth of duck bills. *Condor*, 710-713.
- Gilligan, D. M. & Frankham, R. (2003) Dynamics of genetic adaptation to captivity. *Conservation Genetics*, 4: 189-197.

- Gonzalez, E. B., Umino, T. & Nagasawa, K. (2008) Stock enhancement programme for black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii* (Bleeker), in Hiroshima Bay, Japan: a review. *Aquaculture Research*, 39(12): 1307-1315.
- Gosling, S. D. (2001) From mice to men: what can we learn about personality from animal research?. *Psychological bulletin*, 127(1): 45-86.
- Grant, P. R. (1968) Bill size, body size, and the ecological adaptations of bird species to competitive situations on islands. *Systematic Biology*, 17(3): 319-333.
- Griffiths, R., Double, M. C., Orr, K. & Dawson, R. J. G. (1998) A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, 7: 1071-1075.
- Grindstaff, J. L., Demas, G. E. & Ketterson, E. D. (2005) Diet quality affects egg size and number but does not reduce maternal antibody transmission in Japanese quail *Coturnix japonica*. *Journal of Animal Ecology*, 74(6): 1051-1058.
- Gross, W. B. & Siegel, H. S. (1983) Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian diseases*, 27: 972-979.
- Guay, P. J. & Iwaniuk, A. N. (2008) Captive breeding reduces brain volume in waterfowl (Anseriformes). *The Condor*, 110: 276-284.
- Guenther, A., Finkemeier, M. A. & Trillmich, F. (2014) The ontogeny of personality in the wild guinea pig. *Animal Behaviour*, 90: 131-139.
- Guillemain, M., Elmberg, J., Gauthier-Clerc, M., Massez, G., Hearn, R. & Champagnon, J. (2010) Wintering French Mallard and Teal are heavier and in better body condition than 30 years ago: Effects of a changing environment? *AMBIO*, 39: 170-180.
- Gunnarsson, G., Elmberg, J. & Waldenström, J. (2011) Trends in body mass of ducks over time: the hypotheses in Guillemain et al. revisited. *AMBIO*, 40: 338-340.
- Hall, C. S. (1934) Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, 18: 385-403.
- Håkansson, J., Bratt, C. & Jensen, P. (2007) Behavioural differences between two captive populations of red jungle fowl (*Gallus gallus*) with different genetic background, raised under identical conditions. *Applied Animal Behaviour Science*, 102(1): 24-38.
- Hanssen, S. A., Hasselquist, D., Folstad, I. & Erikstad, K. E. (2004) Costs of immunity: immune responsiveness reduces survival in a vertebrate. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 271(1542): 925-930.
- Harmon, B. (1998). "Avian heterophils in inflammation and disease resistance." *Poultry Science* 77(7): 972-977.
- Hayward, L. S. & Wingfield, J. C. (2004) Maternal corticosterone is transferred to avian yolk and may alter offspring growth and adult phenotype. *General and comparative endocrinology*, 135(3): 365-371.
- Hicks, A. F. (1958) Heritability and correlation analyses of egg weight, egg shape and egg number in chickens. *Poultry Science*, 37(4): 967-975.
- Hindar, K., Ryman, N. & Utter, F. (1991) Genetic effects of cultured fish on natural fish populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(5): 945-957.
- Hiom, L., Bolton, M., Monaghan, P. & Worrall, D. (1991) Experimental evidence for food limitation of egg production in gulls. *Ornis Scandinavica*, 22(2): 94-97.
- Homberger, B., Jenni-Eiermann, S., Roulin, A. & Jenni, L. (2013) The impact of pre-and post-natal contexts on immunity, glucocorticoids and oxidative stress resistance in wild and domesticated grey partridges. *Functional Ecology*, 27(4): 1042-1054.
- Hořák, D. & Albrecht T. (2007) Using net sacks to examine the relationship between egg size and young size in Common Pochards. *Journal of Field Ornithology*, 78: 334-339.

- Hoyo, J. del, Elliott, A. & Sargatal J., eds. (1996) *Handbook of the Birds of the World, Vol. 1 Ostrich to Ducks*, Lynx Edicions, Barcelona.
- Hoyt, D. F. (1979) Practical methods of estimating volume and fresh weight of bird eggs. *The Auk*, 96: 73-77.
- Hudec, K. ed. (1994) *Fauna ČR a SR. Ptáci I*. Academia, Praha.
- Hůda, J., Hanzal, V., Kunitzká, E. & Plaňanská, J. (2001) Chov kachny divoké v honitbách Rybářství Třeboň a. s., Abstrakt z konference „Pernatá zvěř 2001“.
- Hughes, R. N. (1997) Intrinsic exploration in animals: motives and measurement. *Behavioural Processes*, 41(3): 213-226.
- IUCN (1998) *Guidelines for Reintroductions*. Prepared by the IUCN/SCC Re-introduction Specialist Group, IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge.
- IUCN (2012) IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.1. [online]. [cit. 2012-07-30]. Dostupné z WWW: [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org).
- Javůrková, V., Albrecht, T., Mrázek, J. & Kreisinger, J. (2014) Effect of intermittent incubation and clutch covering on the probability of bacterial trans-shell infection. *Ibis*, 156(2): 374-386.
- Jensen, M. B., Vestergaard K. S., Krohn C. C. & Munksgaard L. (1997) Effect of single versus group housing and space allowance on responses of calves during open-field tests. *Applied Animal Behaviour Science*, 54: 109-121.
- Jensen, P. & Andersson, L. (2005) Genomics meets ethology: a new route to understanding domestication, behavior, and sustainability in animal breeding. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 34(4): 320-324.
- Johnsgard, P. A. (2010) Waterfowl of North America: hunting and recreational values of North American waterfowl, *Waterfowl of North America, Revised Edition (2010)*, Paper 6.
- Jones, R. B. (1983) Fear responses in domestic chicks as a function of the social environment. *Behavioural processes*, 8(4): 309-325.
- Jones, R. B. & Merry, B. J. (1988) Individual or paired exposure of domestic chicks to an open field: some behavioural and adrenocortical consequences. *Behavioural processes*, 16(1): 75-86.
- Kaminski, P., Jerzak, L., Sparks, T. H., Johnston, A., Bochenski, M., Kasprzak, M., Wiśniewska, E., Mroczkowski, S. & Tryjanowski, P. (2014) Sex and other sources of variation in the haematological parameters of White Stork *Ciconia ciconia* chicks. *Journal of Ornithology*, 155(1): 307-314.
- Kear, J. (2005) *Bird Families of the World: Ducks, Geese and Swans*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Kehoe, F. P., Ankney, C. D. & Alisauskas, R. T. (1988) Effects of dietary fiber and diet diversity on digestive organs of captive Mallards (*Anas platyrhynchos*). *Canadian Journal of Zoology*, 1988, 66: 1597-1602
- Kelada, S. N., Aylor, D. L., Peck, B. C., Ryan, J. F., Tavarez, U., Buus, R. J., Miller D. R., Chesler E. J., Treadgill D. W., Churchill G. A., de Vileña F. P. & Collins, F. S. (2012) Genetic analysis of hematological parameters in incipient lines of the collaborative cross. *G3: Genes/ Genomes/ Genetics*, 2(2): 157-165.
- Kelley, J., Walter, L. & Trowsdale, J. (2005) Comparative genomics of major histocompatibility complexes. *Immunogenetics*, 56(10): 683-695.
- Kilgour, R. (1975) The open-field test as an assessment of the temperament of dairy cows. *Animal Behaviour*, 23: 615 – 624.
- Klasing, K. C. (2003). The costs of immunity. *Dong wu xue bao [Acta zoologica Sinica]*, 50(6): 961-969.



- Kleiman, D. G., Thompson, K. V. & Baer, C. K. (Eds.). (2010) *Wild mammals in captivity: principles and techniques for zoo management*. University of Chicago Press.
- Klempt, M., Rathkolb, B., Fuchs, E., de Angelis, M. H., Wolf, E. & Aigner, B. (2006) Genotype-specific environmental impact on the variance of blood values in inbred and F1 hybrid mice. *Mammalian genome*, 17(2): 93-102.
- Kraus, R. H. S., Zeddeman, A., van Hooft, P., Sartakov, D., Soloviev, S. A., Ydenberg, R. C. & Prins, H. H. T. (2011) Evolution and connectivity in the world-wide migration system of the mallard: Inferences from mitochondrial DNA, *BMC Genetics*, 12: 99.
- Kraus, R. H., Hooft, P., Megens, H. J., Tsvey, A., Fokin, S. Y., Ydenberg, R. C., & Prins, H. H. (2013). Global lack of flyway structure in a cosmopolitan bird revealed by a genome wide survey of single nucleotide polymorphisms. *Molecular ecology*, 22(1), 41-55.
- Krist, M. (2009) Short-and long-term effects of egg size and feeding frequency on offspring quality in the collared flycatcher (*Ficedula albicollis*). *Journal of animal ecology*, 78(5): 907-918.
- Krist, M. (2011) Egg size and offspring quality: a meta-analysis in birds. *Biological Reviews*, 86(3): 692-716.
- Krkošek, M., Lewis, M. A. & Volpe, J. P. (2005) Transmission dynamics of parasitic sea lice from farm to wild salmon. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 272(1564): 689-696.
- Koláčková, M., Prokúpková, L., Albrecht, T. & Hořák, D. (2015) Incubation Temperature Influences Trade-Off between Structural Size and Energy Reserves in Mallard Hatchlings. *Physiological and Biochemical Zoology*, 88(1): 1-10.
- Kubešová, L., (2002). *Intenzivní chovy divokých kachen*. Diplomová práce, MZLU UOLM Brno.
- Kul, S. & Seker, I. (2004) Phenotypic correlations between some external and internal egg quality traits in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *International Journal of Poultry Science*, 3(6): 400-405.
- Künzl, C. & Sachser, N. (1999) The behavioral endocrinology of domestication: a comparison between the domestic guinea pig (*Cavia aperea f. porcellus*) and its wild ancestor, the cavy (*Cavia aperea*). *Hormones and Behavior*, 35(1): 28-37.
- Laikre, L., Palmé, A., Josefsson, M., Utter, F. & Ryman, N. (2006) Release of alien populations in Sweden. *AMBIO*, 35: 255-261.
- Laikre, L., Schwartz, M. K., Waples, R. S., Ryman, N. & The GeM Working Group (2010) Compromising genetic diversity in the wild: unmonitored large-scale release of plants and animals. *Trends in Ecology and Evolution*, 25: 520-529.
- Lang, E., Gatidis, S., Freise, N. F., Bock, H., Kubitz, R., Lauermann, C., Orth H. M., Klindt C., Schuier M., Keitel V., Reich M., Liu G., Schmidt, S., Xu, H. C., Quadri, S. M., Herebian, D., Pandya, A. A., Mayatepek, E., Gulbins, E., Lang, F., Hausinger, D., Lang, K. S., Foller, M. & Lang, P. A. (2015) Conjugated bilirubin triggers anemia by inducing erythrocyte death. *Hepatology*, 61(1): 275-284.
- Lebarbenchon, C., Brown, S. P., Poulin, R., Gauthier-Clerc, M. & Thomas, F. (2008) Evolution of pathogens in a man-made world. *Molecular Ecology*, 17: 475-484.
- Lee, F. B. & Kruse, A. D. (1973) High survival and homing rate of hand-reared wild-strain mallards. *The Journal of Wildlife Management*, 37: 154-159.
- Lepage, O., Øverli, Ø., Petersson, E., Järvi, T. & Winberg, S. (2000) Differential stress coping in wild and domesticated sea trout. *Brain, Behavior and Evolution*, 56(5): 259-268.
- Lessells, C. M. & Boag, P. T. (1987) Unrepeatable repeatabilities: a common mistake. *The Auk* 104: 116-121.

- Leussis, M. P. & Bolivar, V. J. (2006) Habituation in rodents: a review of behavior, neurobiology, and genetics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 30(7): 1045-1064.
- Lincoln, F. C. (1934) Restocking of marshes with hand-reared mallards not proved practicable. *Yearbook of the United States Department of Agriculture*, 1934: 310-313.
- Liukkonen-Anttila, T., Saartoala, R. & Hissa, R. (2000) Impact of hand-rearing on morphology and physiology of the capercaillie (*Tetrao urogallus*). *Comparative Biochemistry and Physiology – Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 125: 211-221.
- Ljungfeldt, L. E. R., Espedal, P. G., Nilsen, F., Skern-Mauritzen, M. & Glover, K. A. (2014) A common-garden experiment to quantify evolutionary processes in copepods: the case of emamectin benzoate resistance in the parasitic sea louse *Lepeophtheirus salmonis*. *BMC evolutionary biology*, 14(1): 108.
- Locke, L. N. & Friend, M. (1987) Avian botulism. *Field guide to wildlife diseases*. 1: 135-152.
- Lowry, V. K., Genovese, K. J., Bowden, L. L. & Kogut, M. H. (1997) Ontogeny of the phagocytic and bactericidal activities of turkey heterophils and their potentiation by *Salmonella enteritidis*-immune lymphokines. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 19(1): 95-100.
- Lucas, A. M. & Jamroz, C. (1961) *Atlas of avian hematology*. United States Department of Agriculture, Washington.
- Lynch, M. & O'Hely, M. (2001) Captive breeding and the genetic fitness of natural populations. *Conservation Genetics*, 2: 363-378.
- Mank, J. E., Carlson J. E. & Brittingham M. C. (2004) A century of hybridization: decreasing genetic distance between American black ducks and mallards. *Conservation Genetics*, 5(3): 395-403
- Masello, J. F., Choconi, R. G., Helmer, M., Kremberg, T., Lubjuhn, T. & Quillfeldt, P. (2009) Do leucocytes reflect condition in nestling burrowing parrots *Cyanoliseus patagonus* in the wild?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 152(2): 176-181.
- Mausser, D. M., Jarvis, R. L. & Gilmer, D. S. (1994) Survival of radio-marked mallard ducklings in northeastern California. *The Journal of wildlife management*, 58(1): 82-87.
- McGinnity, P., Prodöhl, P., Ferguso, A., Hynes, R., ó Maoiléidigh, N., Baker, N., Cotter, D., O'Hea, B., Cooke, D., Rogan, G., Taggart, J. & Cross, T. (2003) Fitness reduction and potential extinction of wild populations of Atlantic salmon, *Salmo salar*, as a result of interactions with escaped farm salmon. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1532): 2443-2450.
- McPhee, E. (2004) Generations in captivity increases behavioral variance: considerations for captive breeding and reintroduction programs. *Biological Conservation*, 115: 71-77.
- McWilliams, S. R. & Karasov, W. H. (2001) Phenotypic flexibility in digestive system structure and function in migratory birds and its ecological significance. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 128: 577-591.
- Ministerstvo zemědělství (2009 – 2015) Myslivecká statistika a myslivecké evidence. [online]. [cit. 2015-06-30]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/lesy/myslivost/statistika/myslivecka-statistika.html>.
- Miranda, A. C., Schielzeth, H., Sonntag, T. & Partecke, J. (2013) Urbanization and its effects on personality traits: a result of microevolution or phenotypic plasticity?. *Global change biology*, 19(9): 2634-2644.
- Mirman, D. (2014) *Growth curve analysis and visualization using R*. CRC Press; Boca Raton.
- Mignon-Grasteau, S., Boissy, A., Bouix, J., Faure, J. M., Fisher, A. D., Hinch, G. N., Jenden, P., Le Neindre, P., Mormède, P., Prunet, P., Vandeputte, M. & Beaumont, C. (2005) Genetics of adaptation and domestication in livestock. *Livestock Production Science*, 93(1): 3-14.

- Mondain-Monval, J. Y. & Girard, O. (2000) Le Canard Colvert, la Sarcelle d'Hiver & autres canards de surface. *Faune Sauvage*, 251: 124-139.
- Moon, D. A., Veniamin, S. M., Parks-Dely, J. A. & Magor, K. E. (2005) The MHC of the duck (*Anas platyrhynchos*) contains five differentially expressed class I genes. *The Journal of Immunology*, 175(10): 6702-6712.
- Murphy, K., Travers, P., & Walport, M. (2008). "Janeways Immuno Biology 7th ed. Garland Pub." Inc. New York and London.
- Musil, P., Cepák, J., Hudec, K. & Zárbynický, J. (2001) *The long-term trends in the breeding waterfowl populations in the Czech Republic*. OMPO & Institute of Applied Ecology, Kostelec nad Černými lesy.
- Musil, P. & Cepák, J. (2004) Vývoj početnosti hnízdních populací vodních ptáků v ČR a jeho možné příčiny. *Ochrana Přírody*, 59: 294-297.
- Musil, P., Musilová, Z., Fuchs, R. & Poláková, S. (2011) Long-term changes in numbers and distribution of wintering waterbirds in the Czech Republic (1966-2008). *Bird Study*, 58: 450-460.
- Nadolski, J., Skwarska, J., Kaliński, A., Bańbura, M., Śniegula, R. & Bańbura, J. (2006) Blood parameters as consistent predictors of nestling performance in great tits (*Parus major*) in the wild. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 143(1): 50-54.
- Newton, I. (1998) *Population limitation in migrants*. Academic press, San Diego, USA.
- Nichols, J. D., Johnson, F. A. & Williams, B. K. (1995) Managing North American waterfowl in the face of uncertainty. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26: 177-199.
- Noer, H., Søndergaard, M. & Jørgensen, T. B. (2008) *Udsætning af gråænder i Danmark og påvirkning af søers fosforindhold*. Danmarks Miljøundersøgelser, Aarhus Universitet – Faglig rapport fra DMU nr. 687.
- Norén, K., Dalen, L., Kvaløy, K. & Angerbjörn, A. (2005) Detection of farm fox and hybrid genotypes among wild arctic foxes in Scandinavia. *Conservation Genetics*, 6(6): 885-894.
- Osborne, C. E., Swift, B. L. & Baldassarre, G. A. (2010) Fate of captive-reared and released mallards on eastern Long Island, New York. *Human-Wildlife Interactions*, 4: 266-274.
- Ossenkopp, K. P. (1980) The open-field test as a rapid and sensitive behavioural measure in white Peking ducklings *Anas platyrhynchos*. *Bird Behavior*, 2: 23-35.
- Ots, I., Murumägi, A. & Horak, P. (1998) Haematological health state indices of reproducing great tits: methodology and sources of natural variation. *Functional Ecology*, 12(4): 700-707.
- Pavlišová, L. (2008) *Vybrané morfologické a fyziologické parametry divokých kachen (Anas platyrhynchos)*. Ekonomické zhodnocení chovu kachen. Disertační práce, MZLU UOLM Brno
- Pehrsson, O. (1991) Egg and clutch size in the mallard as related to food quality. *Canadian journal of zoology*, 69(1): 156-162.
- Pekár, S. & Brabec, M. (2009) *Moderní Analýza Biologických Dat 1. Zobecněné Lineární Modely v Prostředí R*. Scientia, Praha.
- Pérez-Buitrago, N., García, M. A., Sabat, A., Delgado, J., Álvarez, A., McMillan, O. & Funk, S. M. (2008) Do headstart programs work? Survival and body condition in headstarted Mona Island iguanas *Cyclura cornuta stejnegeri*. *Endangered Species Research*, 6: 55-65.
- Pihlaja, M., Siitari, H. & Alatalo, R. V. (2006) Maternal antibodies in a wild altricial bird: effects on offspring immunity, growth and survival. *Journal of Animal Ecology*, 75(5): 1154-1164.
- Pöysä, H. (1983) Morphology-mediated niche organization in a guild of dabbling ducks. *Ornis Scandinavica*, 14(4): 317-326.

- Prince, H. H., Siegel, P. B., & Cornwell, G. W. (1970). Inheritance of egg production and juvenile growth in mallards. *The Auk*, 342-352.
- Prut, L. & Belzung, C. (2003) The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*, 463: 3-33.
- Purdy, C. W., Richards, A. B. & Foster, G. S. (1991) Market stress-associated changes in serum complement activity in feeder calves. *American Journal of Veterinary Research*, 52(11): 1842-1847.
- Rex, A., Voigt, J. P., Voits, M. & Fink, H. (1998) Pharmacological evaluation of a modified open-field test sensitive to anxiolytic drugs. *Pharmacology Biochemistry and behavior*, 59: 677-683.
- Robert, A. (2009) Captive breeding genetics and reintroduction success. *Biological Conservation*, 142: 2915-2922.
- Roche, E. A., Cuthbert, F. J. & Arnold, T. W. (2008) Relative fitness of wild and captive-reared Piping Plovers: Does egg salvage contribute to recovery of the endangered Great Lakes population?. *Biological Conservation*, 141(12): 3079-3088.
- Rubolini, D., Romano, M., Boncoraglio, G., Ferrari, R. P., Martinelli, R., Galeotti, P., Fasola, M. & Saino, N. (2005) Effects of elevated egg corticosterone levels on behavior, growth, and immunity of yellow-legged gull (*Larus michahellis*) chicks. *Hormones and Behavior*, 47(5): 592-605.
- Saino, N., Calza, S. & Møller, A. P. (1998) Effects of a dipteran ectoparasite on immune response and growth trade-offs in barn swallow, *Hirundo rustica*, nestlings. *Oikos*, 81(2): 217-228.
- Sanchez-Donoso, I., Huisman, J., Echegaray, J., Puigcerver, M., Rodríguez-Teijeiro, J. D., Hailer, F. & Vilà, C. (2014) Detecting slow introgression of invasive alleles in an extensively restocked game bird. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2: 15.
- Santilli, F., Mazzoni Della Stella, R., Mani, P., Fronte, B., Paci, G. & Bagliacca, M. (2004) Behavioural differences between pheasants artificially hatched from wild parents or from farm parents [Tuscany]. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa (Italy)*.
- Schmid-Hempel, P. & Ebert, D. (2003) On the evolutionary ecology of specific immune defence. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(1): 27-32.
- Schwabl, H. (1996). Maternal testosterone in the avian egg enhances postnatal growth. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 114(3), 271-276.
- Scotti, M. A. L., Carlton, E. D., Demas, G. E. & Grippo, A. J. (2015) Social isolation disrupts innate immune responses in both male and female prairie voles and enhances agonistic behavior in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Hormones and behavior*, 70: 7-13.
- Sellers, R. A. (1973) Mallard releases in understocked prairie pothole habitat. *The Journal of Wildlife Management*, 37: 10-22.
- Schladweiler, J. L. & Tester, J. R. (1972) Survival and behavior of hand-reared mallards in the wild. *The Journal of Wildlife Management*, 36: 1118-1127.
- Schneider, R. A. (2005). Developmental mechanisms facilitating the evolution of bills and quills. *Journal of anatomy*, 207(5): 563-573.
- Sih, A., Bell A. M., Johnson, J. C. & Ziemba, R. E. (2004) Behavioral syndromes: an integrative overview. *The quarterly review of biology*, 79: 241-277.
- Sokos, C., Birtsas, P., Papaspyropoulos, K. G., Giannakopoulos, A., Athanasiou, L. V., Manolakou, K., Spyrou, V. & Billinis, C. (2015) Conservation Considerations for a Management Measure: An Integrated Approach to Hare Rearing and Release. *Environmental management*, 55(1): 19-30.
- Solberg, M. F., Skaala, Ø., Nilsen, F. & Glover, K. A. (2013) Does domestication cause changes in growth reaction norms? A study of farmed, wild and hybrid Atlantic salmon families exposed to environmental stress. *PLoS One*, 8(1): e54469.

- Soler, J. J., Moreno, J. & Potti, J. (2003) Environmental, genetic and maternal components of immunocompetence of nestling pied flycatchers from a cross-fostering study. *Evolutionary Ecology Research*, 5(2): 259-272.
- Söderquist, Pär (2015). *Large-scale releases of native species: the mallard as a predictive model systém*. Dizertační práce, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Söderquist, P., Gunnarsson, G. & Elmberg, J. (2013). Longevity and migration distance differ between wild and hand-reared mallards *Anas platyrhynchos* in Northern Europe. *European journal of wildlife research*, 59(2): 159-166.
- Söderquist, P., Norrström, J., Elmberg, J., Guillemain, M., & Gunnarsson, G. (2014). Wild Mallards Have More “Goose-Like” Bills Than Their Ancestors: A Case of Anthropogenic Influence?. *PloS one*, 9(12), e115143.
- Soutiere, E. C. (1989) Survival rates of hand-reared mallards released on 2 private farms. *The Journal of Wildlife Management*, 53: 114-118.
- Spinu, M., Spinu, O. & Degen, A. A. (1999) Haematological and immunological variables in a domesticated and wild subspecies of ostrich (*Struthio camelus*). *British Poultry Science*, 40(5): 613-618.
- Stahl, G. (1983) Differences in the amount and distribution of genetic variation between natural populations and hatchery stocks of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 33(1): 23-32.
- Stanton, J. D., Soutiere, E. C. & Lancia, R. A. (1992) Survival and reproduction of game-farm female mallards at Remington farms, Maryland. *Wildlife Society Bulletin*, 20: 182-188.
- Stearns, S. C. (1989). The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *BioScience*, 39(7): 436-445.
- Stunden, C. E., Bluhm, C. K., Cheng, K. M. & Rajamahendran, R. (1999) Factors affecting reproductive performance in captive mallard ducks. *Theriogenology*, 52: 435-446.
- Suarez, S. D. & Gallup, G. G. (1980) An ethological analysis of open-field behaviour in ducks *Anas platyrhynchos*. *Bird Behavior*, 2(2): 93-105.
- Suarez, S. D. & Gallup, G. G. (1981) An ethological analysis of open-field behavior in rats and mice. *Learning and motivation*, 12(3): 342-363.
- Suarez, S. D. & Gallup, G. G. (1982) Open-field behavior in chickens: The experimenter is a predator. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 96(3): 432.
- Suarez, S. D. & Gallup, G. G. (1983) Social reinstatement and open-field testing in chickens. *Animal Learning & Behavior*, 11(1): 119-126.
- Svobodová, J., Gabrielová, B., Synek, P., Marsik, P., Vaněk, T., Albrecht, T. & Vinkler, M. (2013). The health signalling of ornamental traits in the Grey Partridge (*Perdix perdix*). *Journal of Ornithology*, 154(3): 717-725.
- Šťastný, K. & Bejček, V. (1989) Hospodaříme správně s vodní pernatou zvěří? *Myslivost*, 7: 154 - 155.
- Šťastný, K., Bejček, V. & Hudec, K. (2006) *Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice 2001-2003*. Aventinum, Praha.
- Točka, I. (1972) Možnosti chovu polodivokých kačic v podmienkach Slovenska. *Folia venatoria*, 2: 329-335.
- Trník, M., Albrechtová, J. & Kratochvíl, L. (2011) Persistent effect of incubation temperature on stress-induced behavior in the Yucatan banded gecko (*Coleonyx elegans*). *Journal of Comparative Psychology*, 125: 22 - 30.
- Tschirren, B., Rutstein, A. N., Postma, E., Mariette, M. & Griffith, S. C. (2009) Short-and long-term consequences of early developmental conditions: a case study on wild and domesticated zebra finches. *Journal of evolutionary biology*, 22(2): 387-395.

- USFWS (2003) *Review of captive-bred mallard regulations on shooting preserves*. Division of Migratory Bird Management, U. S. Fish and Wildlife Service, Washington D. C.
- USFWS (2012) *Waterfowl population status, 2012*. U. S. Department of the Interior, Washington, D. C., USA
- Väisänen, J. & Jensen, P. (2003) Social versus exploration and foraging motivation in young red junglefowl (*Gallus gallus*) and White Leghorn layers. *Applied Animal Behaviour Science*, 84(2): 139-158.
- Van Rijn, J. A. & Reina, R. D. (2010) Distribution of leukocytes as indicators of stress in the Australian swellshark, *Cephaloscyllium laticeps*. *Fish & shellfish immunology*, 29(3): 534-538.
- Villanúa, D., Pérez-Rodríguez, L., Casas, F., Alzaga, V., Acevedo, P., Viñuela, J. & Gortázar, C. (2008) Sanitary risks of red-legged partridge releases: introduction of parasites. *European Journal of Wildlife Research*, 54(2): 199-204.
- Villegas, A., Guzman, J. S., Corbacho, C., Corbacho, P. & Vargas, J. M. (2004) Blood values of Bald Ibis (*Geronticus eremita*) in captivity: comparative ranges and variability with age, sex and physical condition. *Journal of Ornithology*, 145(2): 98-104.
- Vinkler, M., Schnitzer, J., Munclinger, P., Votýpka, J. & Albrecht, T. (2010) Haematological health assessment in a passerine with extremely high proportion of basophils in peripheral blood. *Journal of Ornithology*, 151: 841-849.
- Viscor, G., Marques, M. S. & Palomeque, J. (1985) Cardiovascular and organ weight adaptations as related to flight activity in birds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 82(3): 597-599.
- Vittecoq, M., Grandhomme, V., Champagnon, J., Guillemain, M., Crescenzo-Chaigne, B., Renaud, F., Thomas, F., Gauthier-Clerc, M. & Van Der Werf, S. (2012). High influenza A virus infection rates in mallards bred for hunting in the Camargue, South of France. *PloS one*, 7(8): e43974.
- Vleck, C. M., Vertalino, N., Vleck, D. & Bucher, T. L. (2000) Stress, corticosterone, and heterophil to lymphocyte ratios in free-living Adelie penguins. *The condor*, 102: 392-400.
- Weinhold, U. (2008). Draft European action plan for the conservation of the common hamster (*Cricetus cricetus* L., 1758). In *Preliminary Document. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats*
- Weller, M. W. (1956) A simple field candler for waterfowl eggs. *Journal of Wildlife Management*, 20: 111-113.
- Wetlands International (2006) *Waterbird Population Estimates – Fourth Edition*. Wetlands International, Wageningen
- Williams, T. D. (1994) Intraspecific variation in egg size and egg composition in birds: effects on offspring fitness. *Biological Reviews*, 69(1): 35-59.
- Williams, B. K. & Johnson, F. A. (1995) Adaptive management and the regulation of waterfowl harvests. *The Wildlife Society Bulletin*, 23: 430-436.
- Williams, L. J., King, A. J. & Mettke-Hofmann, C. (2012) Colourful characters: head colour reflects personality in a social bird, the Gouldian finch, *Erythrura gouldiae*. *Animal Behaviour*, 84(1): 159-165.
- Woodworth, L. M., Montgomery, M. E., Briscoe, D. A. & Frankham, R. (2002) Rapid genetic deterioration in captive populations: causes and conservation implications. *Conservation Genetics*, 3: 277-288.
- Yamato, O., Goto, I. & Maede, Y. (1996) Hemolytic anemia in wild seaducks caused by marine oil pollution. *Journal of wildlife diseases*, 32(2): 381-384.

- Yerkes, T. & Bluhm, C. (1998) Return rates and reproductive output of captive-reared female mallards. *The Journal of Wildlife Management*, 62: 192-198.
- Zasadil, P. (2001) *Ptačí budky a další způsoby zvyšování hnízdních možností ptáků*. Český svaz ochránců přírody, Praha.
- Zbořil, J., Košík, J. Čížková, D. (2007) *Podpora přírodních populací kachny divoké a ohrožených druhů kachnovitých ptáků*. Metodická příručka, Okresní myslivecký spolek ČMMJ Olomouc.
- Žampachová, B. (2013) *Opakovatelnost behaviorálních testů osobnosti*. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze. Praha.

## Přílohy

**Příloha 1:** Význam jednotlivých efektů na hmotnost mlád'at růstovém lineárním modelu s náhodnými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky,  $df$  – počet stupňů volnosti,  $P$  – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Objem vejce	91.849	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (lineár.)	149.140	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (kvadr.)	50.959	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (kubic.)	126.0	1	<b>&lt; 0.001</b>
Původ	0.739	1	0.390
Pohlaví	3.554	1	0.059
Věk (lineár.) × Pohlaví	1.325	1	0.250
Věk (kvadr.) × Pohlaví	0.690	1	0.406
Věk (kubic.) × Pohlaví	0.411	1	0.521
Věk (lineár.) × Původ	0.711	1	0.399
Věk (kvadr.) × Původ	7.122	1	<b>0.008</b>
Věk (kubic.) × Původ	0.182	1	0.669

**Příloha 2:** Význam jednotlivých efektů na standardizovanou délku tarzu (délka tarzu/hmotnost) mlád'at v růstovém lineárním modelu s náhodnými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky,  $df$  – počet stupňů volnosti,  $P$  – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Objem vejce	59.781	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (lineár.)	142.050	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (kvadr.)	72.286	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (kubic.)	88.421	1	<b>&lt; 0.001</b>
Původ	4.579	1	<b>0.032</b>
Pohlaví	0.112	1	0.738
Věk (lineár.) × Pohlaví	1.011	1	0.315
Věk (kvadr.) × Pohlaví	0.278	1	0.598
Věk (kubic.) × Pohlaví	0.202	1	0.653
Věk (lineár.) × Původ	0.083	1	0.773
Věk (kvadr.) × Původ	0.439	1	0.508
Věk (kubic.) × Původ	0.018	1	0.893



**Příloha 3:** Význam jednotlivých efektů na standardizovanou šířku zobáku (šířka zobáku/délka tarzu) mláďat v růstovém lineárním modelu s náhodnými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky, df – počet stupňů volnosti, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Objem vejce	0.389	1	0.533
Věk (lineár.)	0.012	1	0.912
Věk (kvadr.)	84.431	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (kubic.)	29.221	1	<b>&lt; 0.001</b>
Původ	12.381	1	<b>&lt; 0.001</b>
Pohlaví	0.041	1	0.840
Věk (lineár.) × Pohlaví	0.171	1	0.680
Věk (kvadr.) × Pohlaví	1.233	1	0.267
Věk (kubic.) × Pohlaví	0.004	1	0.953
Věk (lineár.) × Původ	7.347	1	<b>0.007</b>
Věk (kvadr.) × Původ	11.262	1	<b>0.001</b>
Věk (kubic.) × Původ	0.147	1	0.701

**Příloha 4:** Význam jednotlivých efektů na standardizovanou délku zobáku (délka zobáku/délka tarzu) mláďat v růstovém lineárním modelu s náhodnými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky, df – počet stupňů volnosti, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Objem vejce	5.839	1	<b>0.016</b>
Věk (lineár.)	36.755	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (kvadr.)	24.220	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (kubic.)	1.266	1	0.261
Původ	0.082	1	0.775
Pohlaví	1.266	1	0.261
Věk (lineár.) × Pohlaví	0.772	1	0.380
Věk (kvadr.) × Pohlaví	2.290	1	0.130
Věk (kubic.) × Pohlaví	2.023	1	0.155
Věk (lineár.) × Původ	0.024	1	0.877
Věk (kvadr.) × Původ	1.560	1	0.212
Věk (kubic.) × Původ	1.168	1	0.280

**Příloha 5:** Význam jednotlivých efektů na standardizovanou výšku zobáku (výška zobáku/délka tarzu) mláďat v růstovém lineárním modelu s náhodnými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky, df – počet stupňů volnosti, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Objem vejce	0.592	1	0.442
Věk (lineár.)	15.745	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (kvadr.)	109.23	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk (kubic.)	62.815	1	<b>&lt; 0.001</b>
Původ	15.745	1	<b>&lt; 0.001</b>
Pohlaví	0.358	1	0.550
Věk (lineár.) × Pohlaví	1.212	1	0.271
Věk (kvadr.) × Pohlaví	1.377	1	0.241
Věk (kubic.) × Pohlaví	0.004	1	0.952
Věk (lineár.) × Původ	2.944	1	0.086
Věk (kvadr.) × Původ	3.461	1	0.063
Věk (kubic.) × Původ	3.567	1	0.059

**Příloha 6:** Význam jednotlivých efektů na poměr heterofilů ku lymfocytům (H/L) v lineárním modelu se smíšenými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky, df – počet stupňů volnosti, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Residuální tarsus	0.404	1	0.525
Hmotnost	0.560	1	0.454
Pohlaví	4.571	1	<b>0.033</b>
Původ	0.008	1	0.931
Věk	38.756	2	<b>&lt; 0.001</b>
Residuální tarsus × Věk	0.496	2	0.780
Hmotnost × Věk	18.116	2	<b>&lt; 0.001</b>
Pohlaví × Věk	2.591	2	0.274
Původ × Věk	0.945	2	0.624
Residuální tarsus × Původ	0.224	1	0.636
Hmotnost × Původ	3.446	1	0.063
Pohlaví × Původ	0.122	1	0.727
Residuální tarsus × Původ × Věk	5.563	2	0.062
Hmotnost × Původ × Věk	0.690	2	0.708
Pohlaví × Původ × Věk	1.049	2	0.592

**Příloha 7:** Význam jednotlivých efektů na druhou hlavní komponentu PCA diferenciálního počtu leukocytů, s níž pozitivně koreluje diferenciální počty monocyty, bazofilů a eozinofilů v lineárním modelu se smíšenými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky, df – počet stupňů volnosti, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Residuální tarzus	7.980	1	<b>0.005</b>
Hmotnost	0.730	1	0.393
Pohlaví	5.296	1	<b>0.021</b>
Původ	12.530	1	<b>&lt; 0.001</b>
Věk	4.035	2	0.133
Residuální tarzus × Věk	4.177	2	0.124
Hmotnost × Věk	1.426	2	0.490
Pohlaví × Věk	3.142	2	0.208
Původ × Věk	4.239	2	0.120
Residuální tarzus × Původ	0.432	1	0.511
Hmotnost × Původ	0.057	1	0.812
Pohlaví × Původ	0.022	1	0.883
Residuální tarzus × Původ × Věk	4.363	2	0.113
Hmotnost × Původ × Věk	3.947	2	0.139
Pohlaví × Původ × Věk	0.168	2	0.920

**Příloha 8:** Význam jednotlivých efektů na poměr imaturních erytrocytů ku všem erytrocytům v lineárním modelu se smíšenými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky, df – počet stupňů volnosti, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Residuální tarzus	0.187	1	0.665
Hmotnost	0.508	1	0.476
Pohlaví	0.138	1	0.710
Původ	0.973	1	0.324
Věk	75.111	2	<b>&lt; 0.001</b>
Residuální tarzus × Věk	13.924	2	<b>0.001</b>
Hmotnost × Věk	23.304	2	<b>&lt; 0.001</b>
Pohlaví × Věk	6.602	2	<b>0.037</b>
Původ × Věk	2.843	2	0.241
Residuální tarzus × Původ	0.001	1	0.978
Hmotnost × Původ	0.870	1	0.351
Pohlaví × Původ	1.059	1	0.304
Residuální tarzus × Původ × Věk	2.374	2	0.305
Hmotnost × Původ × Věk	1238.80	4	<b>&lt; 0.001</b>
Pohlaví × Původ × Věk	0.818	2	0.664

**Příloha 9:** Význam jednotlivých efektů na bakteriolytickou aktivitu komplementu v lineárním modelu se smíšenými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky, df – počet stupňů volnosti, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Residuální tarzus	0.151	1	0.698
Hmotnost6	0.006	1	0.937
Pohlaví	0.454	1	0.501
Původ	5.669	1	<b>0.017</b>
Pohlaví × Residuální tarzus	0.330	1	0.566
Pohlaví × Hmotnost6	0.659	1	0.417
Pohlaví × Původ	0.044	1	0.835
Původ × Residuální tarzus	0.672	1	0.412
Původ × Hmotnost6	6.386	1	<b>0.012</b>

**Příloha 10:** Význam jednotlivých efektů na první komponentu PCA pro parametry chování v open field testu vyjadřující osu aktivity – pasivity v lineárním modelu se smíšenými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky, df – počet stupňů volnosti, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Původ	4.382	1	<b>0.041</b>
Pohlaví	2.122	1	0.151
Hmotnost	2.012	1	0.161
Původ × Pohlaví	0.157	1	0.694
Pohlaví × Hmotnost	0.036	1	0.851
Původ × Hmotnost	0.184	1	0.670

**Příloha 11:** Význam jednotlivých efektů na druhou komponentu PCA pro parametry chování v open field testu vyjadřující pravděpodobně reakci na stres v lineárním modelu se smíšenými efekty testovaný pomocí likelihood ratio testu. Statisticky významné faktory zahrnuté v MAM (minimální adekvátní model) jsou zobrazeny tučně.  $X^2$  – hodnoty chí-kvadrát statistiky, df – počet stupňů volnosti, P – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	$\chi^2$	df	P
Původ	1.565	1	0.216
Pohlaví	0.036	1	0.851
Hmotnost	2.122	1	0.151
Původ × Pohlaví	0.252	1	0.617
Pohlaví × Hmotnost	0.847	1	0.361
Původ × Hmotnost	0.014	1	0.906

**Příloha 12:** Tabulky korelačních matic vzájemných korelací měřených morfologických parametrů pro jednotlivá měření ( $n = 64$ ). Hodnoty nad diagonálou představují hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu, hodnoty pod diagonálou představují dosaženou hladinu významnosti  $P$ .

1. den	hmotnost	tarsus	délka hlavy	délka zob.	výška zob.	šířka zob.	objem vejce
hmotnost		0.588	0.416	-0.133	0.250	0.433	0.951
tarsus	< 0.001		0.649	0.419	0.639	0.722	0.567
délka hlavy	0.001	< 0.001		0.080	0.400	0.571	0.383
délka zob.	0.299	0.001	0.533		0.537	0.496	-0.067
výška zob.	0.048	< 0.001	0.001	< 0.001		0.594	0.272
šířka zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.401
objem vejce	< 0.001	< 0.001	0.002	0.602	0.031	0.001	
4. den	hmotnost	tarsus	délka hlavy	délka zob.	výška zob.	šířka zob.	objem vejce
hmotnost		0.860	0.663	0.346	0.781	0.702	0.867
tarsus	< 0.001		0.733	0.464	0.749	0.761	0.793
délka hlavy	< 0.001	< 0.001		0.379	0.687	0.610	0.550
délka zob.	0.005	< 0.001	0.002		0.537	0.588	0.220
výška zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.731	0.657
šířka zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.578
objem vejce	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.083	< 0.001	< 0.001	
8. den	hmotnost	tarsus	délka hlavy	délka zob.	výška zob.	šířka zob.	objem vejce
hmotnost		0.897	0.420	0.609	0.686	0.841	0.813
tarsus	< 0.001		0.313	0.641	0.753	0.845	0.812
délka hlavy	0.001	0.012		0.142	0.337	0.359	0.383
délka zob.	< 0.001	< 0.001	0.266		0.578	0.612	0.464
výška zob.	< 0.001	< 0.001	0.007	< 0.001		0.803	0.531
šířka zob.	< 0.001	< 0.001	0.004	< 0.001	< 0.001		0.659
objem vejce	< 0.001	< 0.001	0.002	< 0.001	< 0.001	< 0.001	
12. den	hmotnost	tarsus	délka hlavy	délka zob.	výška zob.	šířka zob.	objem vejce
hmotnost		0.918	0.632	0.705	0.761	0.848	0.787
tarsus	< 0.001		0.708	0.671	0.750	0.824	0.842
délka hlavy	< 0.001	< 0.001		0.366	0.563	0.599	0.628
délka zob.	< 0.001	< 0.001	0.003		0.585	0.702	0.511
výška zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.828	0.608
šířka zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.663
objem vejce	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	
16. den	hmotnost	tarsus	délka hlavy	délka zob.	výška zob.	šířka zob.	objem vejce
hmotnost		0.906	0.641	0.714	0.759	0.862	0.725
tarsus	< 0.001		0.751	0.716	0.773	0.834	0.818
délka hlavy	< 0.001	< 0.001		0.434	0.691	0.733	0.648
délka zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.532	0.629	0.505
výška zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.835	0.682
šířka zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.687
objem vejce	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	
20. den	hmotnost	tarsus	délka hlavy	délka zob.	výška zob.	šířka zob.	objem vejce
hmotnost		0.906	0.488	0.727	0.744	0.845	0.691
tarsus	< 0.001		0.548	0.748	0.765	0.813	0.750
délka hlavy	< 0.001	< 0.001		0.331	0.487	0.582	0.366
délka zob.	< 0.001	< 0.001	0.008		0.584	0.688	0.488
výška zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.818	0.627
šířka zob.	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		0.625
objem vejce	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	

**Příloha 13:** Tabulky hodnot měřených morfologických charakteristik vajec a růstových parametrů mláďat pro všechna měření ( $n = 64$ ). SE – střední chyba průměru.

Vejce	Divoké		Chovy		Celkem	
Proměnná	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE
Šířka vejce (mm)	40.43	0.36	43.93	0.17	42.60	0.28
Délka vejce (mm)	56.37	0.39	60.48	0.44	58.91	0.40
Objem vejce (cm <sup>3</sup> )	47.62	1.08	60.21	0.80	55.42	1.00
Tvarový index vejce (%)	71.74	0.56	72.74	0.45	72.36	0.35

Věk	1. den						4. den						8. den					
	Divoké		Chovy		Celkem		Divoké		Chovy		Celkem		Divoké		Chovy		Celkem	
Proměnná	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE
Hmotnost (g)	30.73	0.81	39.25	0.57	36.00	0.70	42.06	1.65	54.97	0.95	50.05	1.16	75.54	3.30	102.42	1.81	92.18	2.35
Délka tarzu (mm)	24.21	0.20	25.04	0.20	24.72	0.15	25.24	0.25	26.97	0.18	26.31	0.18	28.87	0.39	31.64	0.24	30.58	0.27
Délka hlavy (mm)	25.34	0.21	25.76	0.14	25.60	0.12	27.05	0.27	27.81	0.17	27.52	0.15	30.42	0.36	32.00	0.34	31.40	0.27
Délka zobáku (mm)	15.03	0.16	14.74	0.15	14.85	0.11	16.90	0.18	17.12	0.15	17.04	0.12	20.96	0.26	21.93	0.18	21.56	0.16
Výška zobáku (mm)	6.28	0.07	6.28	0.06	6.28	0.04	7.39	0.12	7.81	0.07	7.65	0.07	9.06	0.16	9.42	0.08	9.28	0.08
Šířka zobáku (mm)	8.78	0.08	9.11	0.08	8.98	0.06	9.81	0.10	10.25	0.08	10.08	0.07	11.59	0.14	12.34	0.10	12.06	0.09

Věk	12. den						16. den						20. den					
	Divoké		Chovy		Celkem		Divoké		Chovy		Celkem		Divoké		Chovy		Celkem	
Proměnná	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE
Hmotnost (g)	122.66	5.40	170.93	3.28	152.54	4.13	183.41	8.69	248.82	5.06	223.90	6.06	238.94	11.31	321.05	7.79	289.77	8.17
Délka tarzu (mm)	33.67	0.43	37.72	0.23	36.18	0.33	38.29	0.48	43.02	0.25	41.22	0.38	42.15	0.53	46.37	0.29	44.76	0.37
Délka hlavy (mm)	33.11	0.34	34.89	0.23	34.21	0.22	35.79	0.35	37.41	0.22	36.79	0.21	38.70	0.35	39.43	0.22	39.15	0.19
Délka zobáku (mm)	25.53	0.32	26.97	0.21	26.42	0.20	30.00	0.33	31.79	0.23	31.11	0.22	33.43	0.42	35.11	0.26	34.47	0.25
Výška zobáku (mm)	10.44	0.16	11.08	0.09	10.84	0.09	11.73	0.16	12.57	0.08	12.25	0.09	12.66	0.17	13.34	0.10	13.08	0.10
Šířka zobáku (mm)	13.65	0.17	14.59	0.12	14.23	0.11	15.32	0.21	16.36	0.12	15.97	0.13	16.64	0.21	17.50	0.12	17.17	0.12
Plovák (cm <sup>2</sup> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.60	0.33	14.29	0.22	13.64	0.21
Délka 3. prstu (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	47.61	0.52	50.52	0.39	4.94	0.04

**Příloha 14:** Tabulka zjištěných hodnot hematologických parametrů ze všech měření ( $n = 63$ ) a bakteriolytické aktivity komplementu mlád'at ( $n = 61$ ).  
SE – střední chyba průměru.

Věk	3. den						9. den						15. den					
	Divoké		Chovy		Celkem		Divoké		Chovy		Celkem		Divoké		Chovy		Celkem	
	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE
Proměnná																		
Diferenciální počet lymfocytů (%)	38.73	3.01	45.51	1.41	42.93	1.49	57.08	2.17	58.78	1.09	58.13	1.06	58.92	2.07	60.85	1.28	60.12	1.11
Diferenciální počet heterofilů (%)	49.35	2.93	43.55	1.50	45.76	1.48	32.54	2.05	31.44	1.08	31.86	1.02	29.31	1.85	28.81	1.21	29.00	1.02
Diferenciální počet bazofilů (%)	2.47	0.16	2.35	0.12	2.39	0.10	2.69	0.13	2.30	0.13	2.45	0.10	2.94	0.19	2.53	0.13	2.68	0.11
Diferenciální počet eosinofilů (%)	6.23	0.55	5.54	0.32	5.81	0.29	4.12	0.31	3.65	0.23	3.83	0.19	4.37	0.35	4.41	0.29	4.40	0.22
Diferenciální počet monocytů (%)	3.22	0.15	3.06	0.12	3.12	0.09	3.57	0.27	3.83	0.17	3.73	0.15	4.46	0.35	3.40	0.20	3.80	0.19
Poměr H/L	1.61	0.20	1.04	0.07	1.25	0.09	0.63	0.08	0.55	0.03	0.58	0.03	0.55	0.06	0.50	0.03	0.52	0.03
Poměr imaturních erytrocytů (%)	9.42	1.20	14.26	0.88	12.43	0.76	20.29	1.21	17.23	0.44	18.40	0.56	12.07	0.64	10.51	0.33	11.10	0.33

Věk	19. den					
	Divoké		Chovy		Celkem	
	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE
Proměnná						
Aktivita komplementu (s)	525.86	22.39	440.97	17.29	473.91	14.38

**Příloha 15:** Tabulka zjištěných hodnot parametrů chování mláďat v obou měřeních open field testu ( $n_1 = 63$ ,  $n_2 = 62$ ). SE – střední chyba průměru, D – délka trvání, L – doba latence, F – četnost daného prvku chování.

Věk	7. den						14. den					
	Divoké		Chovy		Celkem		Divoké		Chovy		Celkem	
Proměnná	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE	Průměr	SE
Chůze – D (s)	229.13	10.57	187.79	9.05	203.13	0.17	199.07	11.94	155.29	11.14	171.80	8.65
Chůze – L (s)	14.60	3.99	18.42	4.21	17.00	0.45	11.42	2.83	30.41	12.23	23.25	7.75
Vokalizace – D (s)	184.24	13.02	208.56	8.74	199.54	0.80	182.76	11.90	195.98	10.43	191.00	7.88
Sezení – D (s)	6.57	4.15	11.90	5.66	9.92	0.57	8.64	4.44	35.46	10.69	25.35	7.03
Sezení – L (s)	328.23	28.52	324.61	21.00	325.95	0.20	328.11	25.22	270.67	23.93	292.33	17.91
Defekace – F	1.83	0.17	2.08	0.17	1.98	0.14	1.70	0.19	2.24	0.19	2.03	0.14
Defekace – L (s)	97.52	17.40	91.81	13.65	93.93	0.15	112.89	22.00	67.41	14.03	84.56	12.27
Čištění – F	4.09	1.20	5.51	1.14	4.98	0.06	4.43	1.11	5.58	1.13	5.15	0.82
Čištění – L (s)	189.77	34.10	124.31	23.25	148.59	0.08	121.17	33.61	87.49	21.96	100.19	18.60
Klování – F	6.52	0.87	3.36	0.54	4.53	0.50	6.43	1.42	2.42	0.43	3.93	0.64
Klování – L (s)	82.27	12.89	163.05	22.53	133.08	0.95	135.32	26.52	190.83	20.07	169.90	16.25
Skákání – F	1.65	0.99	0.49	0.32	0.92	0.18	1.57	0.71	0.29	0.21	0.77	0.30
Skákání – L (s)	357.87	18.07	384.14	9.06	374.39	0.17	340.59	22.11	380.72	13.45	365.59	11.97
Délka trajektorie (cm)	4328.23	256.43	3576.84	211.92	3860.15	168.98	3826.75	315.38	2907.29	212.95	3253.97	185.69



**Příloha 16:** Spearmanovy korelace jednotlivých parametrů chování v OFT a testovacího pořadí kachňat v rámci jedné klece. *D* – doba trvání, *L* – doba latence, *F* – četnost daného prvku chování. *r<sub>s</sub>* – Spearmanův koeficient korelace, *P* – dosažená hladina významnosti.

Proměnná	OFT 1		OFT 2	
	<i>r<sub>s</sub></i>	<i>P</i>	<i>r<sub>s</sub></i>	<i>P</i>
Chůze - D	-0.082	0.564	-0.061	0.638
Chůze - L	-0.124	0.383	0.215	0.094
Vokalizace - D	0.054	0.706	-0.231	0.071
Sezení - D	-0.018	0.900	0.206	0.109
Sezení - L	0.022	0.876	-0.151	0.242
Defekace - F	-0.006	0.968	0.023	0.858
Defekace - L	-0.127	0.369	-0.068	0.599
Čištění - F	0.141	0.319	0.165	0.199
Čištění - L	-0.081	0.570	-0.157	0.222
Klování - F	-0.171	0.226	0.036	0.779
Klování - L	0.137	0.332	0.083	0.519
Skákání - F	-0.145	0.305	0.052	0.687
Skákání - L	0.151	0.286	-0.053	0.680
Délka trajektorie	0.041	0.773	-0.032	0.803